

**ZUM VORKOMMEN
VON SCHIMMELPILZEN
DER GATTUNG CLADOSPORIUM LINK
EX FRIES AUF SCHAFFLEISCH**

Nada Khalifa Mohamed Mansour

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Lehrstuhl Prof. Dr. Dr. h.c. L. KOTTER

ZUM VORKOMMEN VON SCHIMMELPILZEN
DER GATTUNG CLADOSPORIUM LINK EX FRIES AUF SCHAFFLEISCH

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
B.V.Sc., M.V.Sc. Nada Khalifa Mohamed MANSOUR

aus
El-Kallag / El-Kalioubia / Ägypten

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker
Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. L. Kotter
Korreferent: Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

Meiner Tochter FATEMA,
meiner FRAU, meinen ELTERN,
meinem kleinen Dorf EL-KALLAG,
meinem Heimatland ÄGYPTEN

gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATUR	2
2.1 <u>Schimmelpilze der Gattung Cladosporium</u>	2
2.2 <u>Vorkommen der Gattung Cladosporium</u>	9
2.2.1 Luft	9
2.2.2 Schlachträume	11
2.2.3 Schlachttiere	13
2.2.4 Kühlanlagen	14
2.2.5 Fleisch und Fleisch-Erzeugnisse	17
2.2.5.1 Schlachtfrisches, gekühltes und gefrorenes Fleisch	17
2.2.5.2 Fleisch-Erzeugnisse	25
2.3 <u>Fleischhygienische Beurteilung von Cladosporien</u>	27
2.4 <u>Maßnahmen gegen das Auftreten von Schimmelpilzen auf Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen</u>	29
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	34
3.1 <u>Erhebungen zum Vorkommen von Schimmelpilzen, insbesondere der Gattung Cladosporium, bei der Schlachtung von Schafen auf dem Schlachthof München</u>	34

3.1.1	Allgemeines zu Material und Methodik	34
3.1.2	Luft des Schlachtraumes	38
3.1.2.1	Material und Methodik	38
3.1.2.2	Ergebnisse	38
3.1.3	Wände und Fußboden des Schlachtraumes	40
3.1.3.1	Material und Methodik	40
3.1.3.2	Ergebnisse	40
3.1.4	Schlachttiere	44
3.1.4.1	Felle	44
3.1.4.1.1	Material und Methodik	44
3.1.4.1.2	Ergebnisse	45
3.1.4.2	Darminhalte	46
3.1.4.2.1	Material und Methodik	46
3.1.4.2.2	Ergebnisse	47
3.1.5	Oberflächen von Schlachttierkörpern	50
3.1.5.1	Material und Methodik	50
3.1.5.2	Ergebnisse	50
3.1.6	Kühlanlagen	53
3.1.6.1	Material und Methodik	53
3.1.6.2	Ergebnisse	53
3.1.7	Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse	55

		Seite
3.2	<u>Versuche zum Wachstum und zur Hemmung von Cladosporium-Stämmen auf Fleischteilstücken von Schafen</u>	61
3.2.1	Vorversuche	61
3.2.2	Hauptversuche	63
3.2.2.1	Material und Methodik	63
3.2.2.2	Ergebnisse	67
4	DISKUSSION	71
5	ZUSAMMENFASSUNG	73
6	SUMMARY	75
7	LITERATURVERZEICHNIS	77

1 EINLEITUNG

Schimmelpilze sind für den Verderb von Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen von großer Bedeutung. Bestimmte Arten, vor allem solche der Gattung *Penicillium*, *Aspergillus* und *Fusarium*, sind z.T. auch Toxinbildner. Ob dies auch bei Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen eine Rolle spielt, ist noch immer offen.

Bei kühlgelagertem Frischfleisch ist Schimmelpilzbefall wegen kurzer Lagerzeiten und des meist schnelleren bakteriellen Verderbs im allgemeinen von geringer Bedeutung, bei gefrorenem Fleisch kann er jedoch problematisch sein. Das gleiche gilt für Fleisch-Erzeugnisse, die länger aufbewahrt werden.

Unter den verderbniserregenden Schimmelpilzen finden sich nicht selten Vertreter der Gattung *Cladosporium* Link ex Fries, und zwar vor allem die Arten *C. cladosporioides*, *C. herbarum* und *C. sphaerospermum*. Sie sind besonders deshalb von Interesse, weil sie schwarze Pigmente bilden, die unter 0 °C aufbewahrtes Fleisch, aber auch Fleisch-Erzeugnisse (besonders Rohschinken) deutlich verfärben und zur sog. "Schwarzfleckigkeit" ("black spots") führen. Die unter den Kolonien in das Produkt eingedrungenen pigmentierten Hyphen können nicht mehr abgewaschen werden.

Aufgabe dieser Arbeit war es, das Vorkommen der Gattung *Cladosporium* Link ex Fries auf Schafffleisch zu studieren und auf Möglichkeiten zu achten, dieses Vorkommen zu respektieren.

2 LITERATUR

2.1 Schimmelpilze der Gattung Cladosporium

Die Bezeichnung "Schimmelpilze" oder "Schimmel" ist im biologischen Sinne kein systematisch definierter Begriff (GOLDBACH, 1968; MÜLLER, 1970, 1974), sie charakterisiert nur trockene, matte, oberflächliche, pulverartige, watteartige, wollige oder strähnige Kolonien, die anfangs weiß, später unterschiedlich verfärbt sind und durch fädige Überzüge oder Beläge auf organischem Material auffallen. Sie werden daher auch als "Fadenpilze" bezeichnet (HADLOK, 1970; SCHMIDT-LORENZ, 1977; GEDEK, 1980).

Die typischen fädigen Pilzzellen, die Hyphen, zeigen apikales Wachstum unmittelbar hinter der Zellspitze und können sich zu Zellverbänden, dem Myzel, zusammenlagern und vernetzen. Besonders charakteristisch ist die Entwicklung von ungeschlechtlichen, vegetativen Fruktifikationsorganen mit Bildung von Sporen oder Konidien. Die Vermehrung und das Wachstum erfolgen durch Sprossung und/oder Knospung (v. ARX, 1968; GEDEK, 1980).

Die Schimmelpilze werden nach morphologischen Merkmalen zu einer großen Gruppe zusammengefaßt, die aber nach ihrer systematischen Stellung verschiedenen Klassen angehören. Die wichtigsten und häufigsten Schimmelpilze gehören zu den Klassen Zygomycetes, Plectomycetes oder Hyphomycetes. Die Zugehörigkeit zu den verschiedenen Gattungen innerhalb der einzelnen Klassen ist unter besonderer Berücksichtigung der lebensmittelhygienischen Bedeutung in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1: Übersicht über die häufigsten Schimmelpilzgattungen mit lebensmittelhygienischer Bedeutung (in Anlehnung an DOMSCH et al., 1980; GEDEK, 1980; SAMSON et al., 1981)

Unterabteilung: Zygomycotina

Klasse: Zygomycetes

Ordnung: Mucorales

Familie: Mucoraceae

Gattung: Absidia Van Tieghem
Mucor Mich. et Fr.
Rhizopus Ehrenb.
Thamnidium Link ex Wallr. (Thamnidaceae)

Unterabteilung: Ascomycotina

Klasse: Plectomycetes

Ordnung: Eurotiales

Familie: Eurotiaceae

Gattung: Byssosclamyces Westling
Emericella Berk. et Br.
Eurotium Link ex Fr.
Monascus Van Tieghem
Neosartorya Malloch et Cain

Unterabteilung: Deutromycotina (Fungi imperfecti)

Klasse: Hyphomycetes

Ordnung: Moniliales

1. Familie: Moniliaceae

Gattung: Acremonium Link ex Fr.
Aspergillus Mich. ex Fr.
Botrytis Mich ex Fr.
Geotrichum Link
Moniliella Stolk et Dakin
Penicillium Link ex Fr.
Scopulariopsis Bainier
Trichoderma Pers. ex Fr.
Trichothecium Link ex Gray

2. Familie: Dematiaceae

Gattung: Alternaria Nees ex Fr.
Cladosporium Link ex Fr.
Phialophora Medlar
Ulocladium Preuss

3. Familie: Tuberculariaceae

Gattung: Fusarium Link ex Fr.

Zu den ubiquitär verbreiteten Schimmelpilzen mit lebensmittelhygienischer Bedeutung zählen die Arten der Gattung Cladosporium Link ex Fries. Da ihnen die geschlechtliche Fortpflanzung fehlt oder die Bedingungen für eine solche bei ihnen unbekannt geblieben sind, werden sie zu den sog. "unvollständigen" Schimmelpilzen, *Fungi imperfecti* oder Deutromycotina, gerechnet und wegen der Bildung dunkelgefärbter Konidien und Myzelien innerhalb der Klasse Hyphomycetes und der Ordnung Moniliales zur Familie der Dematiaceae ("Schwärzepilze") (DOMSCH et al., 1980; GEDEK, 1980; MAYR, 1984).

Ihr vegetatives Stadium ist durch ein gut ausgebildetes Myzel gekennzeichnet, das aus dunklen dünnwandigen, überwiegend schmalen, zylinderförmigen, örtlich mit lipoidhaltiger Schleimhülle versehenen Hyphen besteht. Auf dem Myzel entwickeln sich vielzellige, olivgrüne bis dunkelbraune Konidienträger unterschiedlicher Länge, die als verstreute, seitliche oder endständige Auswüchse der Hyphen, mitunter auch als Bündel aus dunkelbraunem pseudoparenchymatösem Gerüst, entstehen (Abb. 2). Sie sind verhältnismäßig dickwandig und i.d.R. unverzweigt, oft allerdings am distalen Ende knieartig gebogen. Darauf entstehen die Konidien durch Sprossung. Sie liegen meist in kürzeren oder längeren, oft verzweigten Ketten oder als hefeartige Sproßbäumchen vor, die seitlich oder polar Papillen aufweisen. Die Konidien sind 1- bis 8-zellig, oft quer oder längs septiert (muriform) und stets dunkelolivgrün bis dunkelbraun, mitunter bis fast hyalinfarben. Die Form und die Oberfläche der Konidien variieren sehr stark. Sie sind i.d.R. länglich, zylindrisch bis elliptisch, ferner auch oval, kugelförmig oder gar polymorph und meist stumpf oder spitz zulaufend an einem oder beiden Enden (Abb. 3). Sie weisen eine glatte, feinwarzige

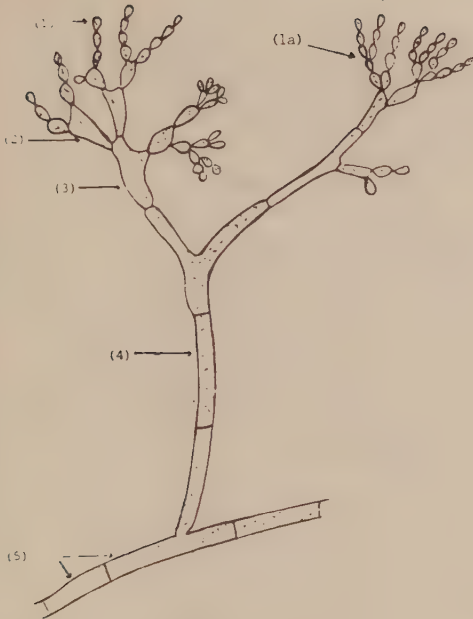


Abb. 1: Cladosporium sp., schematisch

Konidien (1), verzweigte Konidienkette (1a),
"Ramo-Konidien" (2), "Blastokonidien" (3),
Konidiophore (4), septierte Hyphe (5)

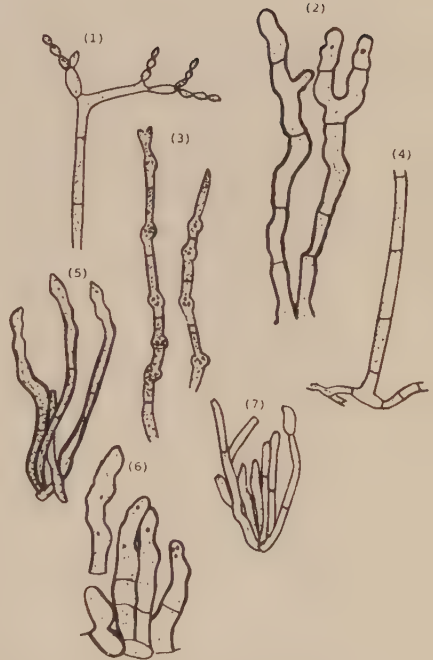


Abb. 2: Cladosporium sp., Konidiophoren-Arten

- (1) gebogen, gleichmäßig (C. herbarum)
(2) gebogen, ungleichmäßig (C. dianthi)
(3) knotig (C. colocasiae)
(4) einfach, gleichmäßig (C. tenuissimum)
(5-7) Bündel: 5 (C. macrocarpum)
6 (C. macrospora)
7 (C. elatum)

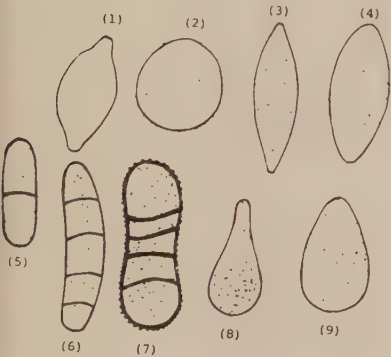


Abb. 3: Cladosporium sp., Konidienformen

- (1) C. chlorocephalum, (2) C. sphaerospermum, (3) C. musae,
(4) C. herbarum, C. cladosporioides, (5) C. colocasiae,
(6) C. spongiosum, (7) C. dianthi, (8) C. ornithogali und
(9) C. resinae .

oder rauhe Oberfläche auf, die oft mit 1 - 4 Hili versehen ist. Auch bei unterschiedlicher Länge der Konidien ist deren Durchmesser ziemlich konstant (DE VRIES, 1952; ELLIS, 1971; DOMSCH et al., 1980; SAMSON et al., 1981).

Bei der Differenzierung von Arten der Gattung *Cladosporium* ergeben sich erhebliche Schwierigkeiten, weil sie sich nicht nur untereinander, sondern auch einer Reihe anderer Schimmelpilze sehr ähnlich sehen. Von den bisher 500 beschriebenen Spezies werden etwa 43 als Gattungsangehörige anerkannt (DOMSCH et al., 1980). Die Auswertung der Fachliteratur zeigt, daß Isolierung und/oder Differenzierung der Schimmelpilze häufig nicht nach den Grundsätzen der Mykologie vorgenommen worden sind. In Fällen, in denen Differenzierungen erfolgt und bestimmte Arten angesprochen worden sind, hat man im Laufe der Jahrzehnte verschiedene Namen für ein und dieselbe Pilzart verwendet (HUGHES, 1958; AINSWORTH, 1961; v. ARX, 1968; HADLOK, 1970; DOMSCH et al., 1980). So hat z.B. HUGHES (1958) festgestellt, daß allein *Cladosporium herbarum* unter 37 verschiedenen Namen in die Literatur eingegangen ist.

In neuerer Zeit hat ELLIS (1971, 1976) alle anerkannten Arten von *Cladosporium* Link ex Fries zusammengestellt (Tabelle 2). Bei Differenzierungen müssen diese Arbeiten berücksichtigt werden. Danach werden die verschiedenen Spezies im wesentlichen nach Art der Ausbildung, Gestalt, Größe, Farbe und Oberflächenbeschaffenheit der Konidien sowie nach Art der Entstehungsweise der Konidienträger am Myzel voneinander unterschieden (vgl. DE VRIES, 1952).

Tabelle 2: Die neu beschriebenen und anerkannten Arten
der Gattung Cladosporium Link ex Fries
(nach ELLIS, 1971, 1976)

- C. state of Amorphotheca resiniae Parbery, 1959
C. chlorocephalum (Fresen.) Mason et Ellis, 1953
C. state of Mycosphaerella dianthi (Burt.) Jøstad, 1945
C. state of Mycosphaerella macrospora (Kleb.) Jøstad, 1945
C. oxysporum Berk. et Curt, 1868
C. colocasiae Sawada, 1916
C. herbarum (Pers.) Link ex Gray, 1821
C. variabile (Cooke) De Vries, 1952
C. macrocarpum Freuss, 1848
C. sphaerospermum Penz., 1882
C. spongiosum Berk. et Curt., 1868
C. state of Venturia carpophila Fisher, 1961
C. musae Mason, 1945
C. cucumerinum Ellis et Arth., 1889
C. cladosporioides (Fresen.) De Vries, 1952
C. tenuissimum Cooke, 1878
C. elatum (Harz) Nannf., 1934
C. britannicum Ellis spec. nov., (1973)
C. nigrellum Ellis et Everh., 1894
C. gallicola Sutton, 1973
C. aecidiicola Thüm., 1876
C. uredinicola Speg., 1912
C. asterinae Deighton, 1969
C. balladynae Deighton, 1969
C. phyllachorae Ellis spec. nov., (1917, 1891)
C. apicale Berk. et Br., 1873
C. staurophorum (Kendrik) Ellis comb. nov., (1961)
C. lacroixii Desm. Pl. crypt. N.F. no. 755.
C. phlei (C.T. Gregory) De Vries, 1952
C. allii-cepae (Ranojević) Ellis comb. nov., (1910)
C. magnusianum (Jaap) Ellis comb. nov., (1902)
C. ornithogali (Klotzsch) De Vries, 1952
C. polygonati Ellis spec. nov., (1965)
C. orchidis E.A. et M.B. Ellis, 1972
C. orchidearum Cooke et Massee, 1888
C. state of Venturia acerina Plakidas ex Barr, 1968
C. brassicae (Ellis et Barth.) Ellis comb. nov., (1899)
C. diaphanum Thüm, 1881
C. obtectum Rabenh., 1889
C. gynoxidicola Petrak, 1948
C. acaciicola Ellis nom. nov., (1970)
C. buteicola Cooke, 1876
C. psoraleae Ellis, 1972
-

Zu den wichtigsten und häufigsten Cladosporium-Arten mit lebensmittelhygienischer Bedeutung zählen *C. cladosporioides* (Fresen) De Vries (Abb. 4), *C. herbarum* (Pers.) Link ex Gray (Abb. 5) und *C. sphaerospermum* Penzig (Abb. 6), daneben *C. macrocarpum* Preuss sowie *C. tenuissimum* Cooke (vgl. ELLIS, 1971, 1976; DOMSCH et al., 1980; SAMSON et al., 1981).



Abb. 4:

C. cladosporioides



Abb. 5:

C. herbarum



Abb. 6:

C. sphaerospermum

2.2 Vorkommen der Gattung Cladosporium

Schimmelpilze der Gattung Cladosporium sind in der Umwelt weitverbreitet. Möglichkeiten zu Kontaminationen bestehen somit überall. Ihre primären Standorte sind die Oberflächen von Pflanzen, insbesondere von Getreiden ("Feldpilze"), gleichzeitig aber auch die Luft und oberste Erdbodenschichten. Schließlich sind sie auch im Wasser anzutreffen, wenn auch meist nur in geringen Mengen (CHRISTENSEN u. KAUFMANN, 1965; SPICHER, 1981; REISS, 1981).

Die Cladosporien haben eine gewisse Tendenz zur parasitären Lebensweise und stellen relativ hohe Ansprüche an die Luftfeuchtigkeit. Sie gedeihen bei einem Wassergehalt des Substrats von 22 - 25 %. Sie stellen ihr Wachstum ein, wenn die Kornfeuchte unter 18 % absinkt (GEDEK, 1980; SPICHER, 1981). Je nach Standort (Nährstoffangebot und Milieubedingungen) kann eine mehr oder weniger rasche Keimung der Sporen oder ein intensives Wachstum von vegetativen Zellen erfolgen. Auf dem Luftweg werden gebildete Sporen oder Konidien am stärksten verbreitet.

2.2.1 Luft

Hauptkontaminationsquelle für Pilzsporen und Hyphen-elemente ist die Luft (HIRST, 1953; RICHARDS, 1956; PADY, 1957; KRAMER et al., 1959; HUDSON, 1969). Bei

den Schimmelpilzsporen überwiegen solche der Gattung Cladosporium (MORROW et al., 1942; HARRIS u. CHAIRMAN, 1950; HYDE u. WILLIAMS, 1949, 1953; GREGORY, 1954; RICHARDS, 1953, 1956; PADY u. KAPICA, 1956; PADY, 1957; KRAMER et al., 1959; PATHAK u. PADY, 1965; HUDSON, 1969).

Von dem in der Luft vorkommenden *C. herbarum* werden 2 Gruppen unterschieden:

1. wollige Kolonien mit großen Konidien
2. nicht wollige Kolonien mit kleineren Konidien
(BROOKS u. HANSFORD, 1923; HYDE u. WILLIAMS, 1953).

Cladosporium-Konidien werden sogar in der Luft über den Ozeanen angetroffen (PADY u. KAPICA, 1955). Zwischen der Sporen- und der Hyphenbildung besteht ein ständiger Wechsel (PADY, 1957; PATHAK u. PADY, 1965). Sporen werden in der Nacht in größeren Mengen produziert und am Morgen "freigelassen" (RICH u. WAGGONER, 1962).

Nach AINSWORTH (1952) und GREGORY (1954) sollen Cladosporium-Sporen während des Regens verstärkt gebildet werden, nach HIRST (1953) und RICH u. WAGGONER (1962) bei trockenem Wetter, nach HYDE u. WILLIAMS (1949), HIRST (1953), PADY u. KAPICA (1956), PADY (1957), KRAMER et al., (1959), PATHAK u. PADY (1965), HARVEY (1967) und OGUNLANA (1975) in den "Sommermonaten".

Die Lebensfähigkeit von Cladosporium-Sporen liegt im Sommer und im Herbst bei 90 % (DAVIES, 1957), sonst zwischen 33 % und 52 % (PATHAK u. PADY, 1965); am Nachmittag und in der Nacht soll sie zunehmen, am Morgen abnehmen (KRAMER et al., 1959).

Die Häufigkeit der Gattung *Cladosporium* unter den in der Luft nachgewiesenen Schimmelpilzen ist in Tabelle 3 zusammengestellt.

2.2.2 Schlachträume

Die Umwelt, in der die Schlachttiere gehalten werden, ist der Ausgangspunkt für die Kontamination der Schlachträume.

In Böden wurden *C. herbarum* und *C. cladosporioides* nachgewiesen (CHESTERS, 1948; WARCUP, 1951; STENTON, 1953; PARK, 1957; GRIFFEN, 1960).

BAXTER u. ILLSTON (1976) untersuchten Proben aus Tierboxen, Schafschlachtstätten sowie Zerlegeräumen, und zwar von Böden, Wänden, Wasserabläufen und Luft. Unter den gefundenen Schimmelpilzen waren auch *C. herbarum* und *C. cladosporioides*. AHMED et al. (1984) untersuchten in Ägypten die Luft von Stallungen für Rinder, Büffel, Schafe, Kaninchen und Hühner und fanden neben *Aspergillus*-, *Penicillium*-, *Mucor*-, *Alternaria*- und *Fusarium*-Arten auch *Cladosporien*.

In Industrie- und Wohnbauten werden zunehmend Polymere eingesetzt. Nach NEWTON (1978) sind Dichtungsmassen auf Polyurethan-Basis für die fleischverarbeitende Industrie ungeeignet, da sich darauf leicht *Alternaria*- und *Phoma*-Arten ansiedeln, die

Tabelle 3: Cladosporien-Anteile an den in der Luft verschiedener Länder nachgewiesenen Schimmelpilzen

Untersucher und Ort der Untersuchung	Zahl der Isolate	%	differenzierte Art
HYDE u. WILLIAMS, 1949; England	2988	51,6	C. herbarum
PADY, 1951; Arktis	1062	15,8	C. herbarum
DYE u. VERNON, 1952; Neuseeland	k.A. ¹⁾	58	
HYDE u. WILLIAMS, 1953; England	7904	68 96 ²⁾	C. herbarum
RICHARDS, 1953; England	k.A.	70 80 ³⁾ 40 ⁴⁾	
HYDE et al., 1956; England	16000	37,8	
MYERS, 1956; Hawaii	1803	33,5	
PADY u. KAPICA, 1956; Kanada	40359	33,5	
RICHARDS, 1956; England	21759	47,7	
BARKI-GOLAN, 1958; Israel	k.A. "	27-32	
HAMILTON, 1959; England	k.A.	15,4	
HYDE u. ADAMS, 1960; England	k.A.	20,5	
BARKI-GOLAN u. GLAZER, 1962; Israel	k.A.	40	
LACEY, 1962; England	k.A.	28,3	
SREERAMULU u. SESHAVATARUM, 1962; Indien	k.A.	29,6	
ADAMS, 1964; England	12328	39,1	
PAWSEY u. HEATH, 1964; England	k.A.	46,5-73	
HARVEY, 1967; England	k.A.	42 ³⁾ 25,5 ⁴⁾	C. herbarum, C. cladosporioides C. sphaerospermum C. macrocarpum C. resinae C. elatum
HUDSON, 1969; England	25877	77,4	

1) keine Angaben

2) Sommermonate

3) landwirtschaftliches Gebiet

4) Stadtgebiet

schwarze Pigmente bilden. SEAL u. PATHIRANA (1982) und FILIP (1979) bestätigen diese Beobachtungen und nennen als weitere Besiedler *C. species*, *A. niger* und *P. citrinum*. Auch diese Arten sind starke Pigmentbildner. Auch FRANK (1983) empfiehlt Zurückhaltung mit Fugen- und Dichtungsmassen, die von Schimmelpilzen besiedelt werden können.

2.2.3 Schlachttiere

Zweifelsfrei sind Felle und Häute, Klauen sowie Magen- und Darminhalte in besonderem Maße mit Schimmelpilzen behaftet.

EMPEY u. SCOTT (1939) untersuchten 5 Kotproben von Rindern und 2 Vormageninhalte und isolierten u.a. die Gattung *Cladosporium*. Bei Bebrütungstemperaturen von -1°C lag das Vorkommen von *Cladosporium* nach *Penicillium* an zweiter Stelle, bei $+20^{\circ}\text{C}$ nach *Fusarium* und *Alternaria* an dritter Stelle.

Nach ROLLE u. KOLB (1954) sowie GEDEK (1967) gelangen die Pilzsporen durch die Fütterung in die Magen- und Darminhalte und werden in *Faeces* lebensfähig ausgeschieden.

BATISTA et al. (1961) untersuchten in Brasilien Kotproben von Rindern und fanden unter den Schimmelpilzen 0,4 % der Gattung *Cladosporium*.

KLARE (1970) untersuchte 10 Kotproben von Schweinen und 10 von Rindern. In allen Proben hat er in größerer Zahl Schimmelpilze nachgewiesen, in Schweinekot zwischen 7000 und 77 Millionen/g, in Rinderkot zwischen 10.000 und 5 Millionen/g Trockenmasse. Die Gattung *Cladosporium* wurde in 4 Rinderkotproben nachgewiesen. (Die häufigsten Gattungen waren *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Absidia* und *Rhizopus*.) Der Kot der Schlachttiere sei bezüglich der Schimmelpilze als nicht zu vernachlässigende Kontaminationsquelle für Fleisch und daraus hergestellte Fleisch-Erzeugnisse anzusehen.

ABDEL-RAHMAN (1981) untersuchte 20 Kotproben von Rindern (10 im Winter, 10 im Sommer) und 20 Kotproben von Schweinen (10 im Winter, 10 im Sommer). Im Kot von Schweinen hat er unter den Schimmelpilzen im Sommer in 12,7 % der Fälle *Cladosporium* nachgewiesen, im Winter in keinem Fall, im Kot von Rindern im Sommer 5,1 %, im Winter 1,1 %.

2.2.4 Kühlanlagen

Schimmelpilze der Gattung *Cladosporium* sind extrem psychrophil (NOSKOWA, 1975; GILL et al., 1981; SINELL, 1985) und wurden in Kühlräumen häufig nachgewiesen.

BIDAULT (1923) hat als erster das Vorkommen von Schimmelpilzen in Kühlhäusern untersucht und u.a. *Homodendrum cladosporioides* (*C. cladosporioides*) nachgewiesen.

GISSKE (1937) isolierte aus einem Kühlraum mit einer Temperatur von 0 bis -1°C bei einer relativen Luftfeuchte von 85 % neben *M. racemosus*, *M. mucedo*, *M. pusillus*, *P. glaucum*, *P. brevicaulis*, *A. candidus* und *C. herbarum*.

PANASSENKO und TATARENKO (1940) fanden in Kühlräumen u.a. *C. herbarum* Link und stellten fest, daß sich diese Schimmelpilze auch unter 0°C entwickeln können.

HADLOK (1970) erwähnte, daß das Fleisch in Kühlräumen nach der Literatur hauptsächlich mit *Penicillium*, *Aspergillus* und *Cladosporium* kontaminiert sein kann.

Vom selben Autor (1972) wurden von Kühlhauswänden neben *Cephalosporium acremonium* und *Aspergillus repens* auch Stämme der Gattung *Cladosporium* isoliert.

MINTZLAFF (1971) untersuchte Anstrichfarben, die gegen Schimmelpilze wirksam sind und in Produktions- und Lagerräumen verwendet werden. Solche Farben müssen gesundheitlich unbedenklich und geruchlos sein. Als Testpilze diente u.a. *C. herbarum*. Er empfahl bestimmte stark und mittelstark wirksame Anstrichmittel für Kühlräume, zumal Temperaturen im Inneren der Tierkörper ($+3^{\circ}\text{C}$ bis $+7^{\circ}\text{C}$) meist nicht so tief sind, daß Schimmelpilze gehemmt werden.

SAVOV und KOUNEV (1974) untersuchten 273 Proben aus Gefrierräumen (-18°C und -20°C) und von darin gelagerten Würsten und Fleisch. Sie fanden neben *Penicillium*, *Mucor* und *Aspergillus* auch *Cladosporium*-Arten, seltener *Alternaria*, *Thamnidium* und *Trichoderma*.

BAXTER und ILLSTON (1976) haben Abstriche von Kühl- und Gefrierräumen 4 - 5 Wochen bei $+4^{\circ}\text{C}$ bebrütet und dann *C. herbarum* und *C. cladosporioides* isoliert.

MINAMI (1983) hat aus 100 Kühl- und Gefrierhäusern auf verschiedenartige Weise Proben entnommen und hat dabei folgende prozentuale Verteilung der Schimmelpilze ermittelt:

Cladosporium-Arten	45,7 %
Penicillium-Arten	25,7 %
"non-spore forming" Schimmelpilze	10 %
Aureobasidium-Arten	7,6 %
Rhodotorula-Arten	3,6 %
Aspergillus-Arten	2,1 %
Cephalosporium-Arten	2,1 %
Trichoderma-Arten	0,8 %
Alternaria-Arten	0,8 %
Rhizopus-Arten	0,8 %

TORRY und MARTH (1977) untersuchten Kühlschränke von Haushaltungen, die Temperaturen zwischen $+3,9^{\circ}\text{C}$ und $+11,9^{\circ}\text{C}$ hatten. Von den isolierten Schimmelpilzen gehörten 3,9 % zu den Cladosporien.

2.2.5 Fleisch und Fleisch-Erzeugnisse

2.2.5.1 Schlachtfrisches, gekühltes und gefrorenes Fleisch

Das Vorkommen von Schimmelpilzen der Gattung *Cladosporium* auf Fleisch wird in der Literatur vornehmlich unter dem Aspekt der sogenannten "Schwarzfleckigkeit" oder "Schwärze" ("black spots") behandelt.

BERGER (1912) hat das Auftreten von schwarzen Flecken auf argentinischem Gefrierrindfleisch untersucht. Neben *Penicillium*, *Mucor*, *Phycomyces*, *Verticillium* und *Oospora* wurde am häufigsten *Cladosporium herbarum* als Ursache dieser Erscheinung nachgewiesen. Das Fleisch sei kontaminiert, bevor es in die Gefrierräume der Schiffe komme. Ungleichmäßige Temperaturen ermöglichen ein Weiterwachsen der Schimmelpilze.

SILVA (1913) untersuchte zahlreiche Proben von schwarzfleckigem Gefrierfleisch und hat stets *C. herbarum* nachgewiesen.

Auch MÜLLER (1913) beschrieb die Schwarzfleckigkeit, die er auf gefrorenen Schlachttierkörpern von Rentieren beobachtete.

Über die Beschreibung der Pilzkolonien, die mit ihrem Myzel in die Unterlage einwuchern, hat eine Differenzierung der Pilze nicht stattgefunden. Er verwies nur darauf, daß diese Erscheinung auf das Wachstum von *C. herbarum* zurückgeführt werde. Die Schwarzfleckigkeit

auf Gefrierfleisch entstehe, wenn beim Abhäuten, Aufbewahren und Verpacken des Fleisches nicht mit Sorgfalt vorgegangen werde.

BIDAULT (1921, 1923) hat auf gefrorenem Fleisch folgende Schimmelpilze gefunden: *Penicillium crustaceum*, *Chaetostylum fresenii*, *Thamnidium elegans*, *Botrytis rosea*, *Hormodendrum cladosporioides* (syn. von *Cladosporium cladosporioides*), *Stysanus stemonitis* und *Cladosporium herbarum*. Häufig haben diese Pilze als Mischkultur vorgelegen. Die Flora auf dem Fleisch hänge weniger von der Fleischart als von den Lagerungsbedingungen ab. Fettgewebe begünstige die Pilzflora. In Tabelle 4 ist das von BIDAULT registrierte Vorkommen der verschiedenen Schimmelpilze in Kühlhäusern und auf Fleisch differenziert nach Temperaturen zusammengestellt.

BROOKS und HANSFORD (1923) studierten die auf gekühltem und gefrorenem Fleisch (Rind, Schaf, Kaninchen) sowie Wurst vorkommenden Schimmelpilze. Ihr besonderes Augenmerk richteten sie auf die Ursache der Schwarzfleckigkeit, die aufgrund der Untersuchungsergebnisse ausschließlich in dem Wachstum von *Cladosporium herbarum* zu suchen sei.

Nach WRIGHT (1923) kann Schwarzfleckigkeit auf Gefrierfleisch nicht nur durch *C. herbarum*, sondern auch durch andere Schimmelpilze wie *Rhizopus*, *Mucor mucedo* und *Penicillium glaucum* verursacht werden.

SEMIENIUK und BALL (1937) untersuchten Fleisch aus Kühlhäusern und isolierten nur *Cladosporium herbarum* als "black spots"-Verursacher.

Tabelle 4: Vorkommen verschiedener Schimmelpilze bei der
Kühllagerung nach BIDAULT (1923)

Schimmelpilzart	Vorkommen	Temperatur
<i>Chaetosylum fresenii</i> = <i>Thamnidium chaeto-</i> <i>cladoioides</i>	Kühlhäuser, Fleisch	-8 bis -10 °C
<i>Thamnidium elegans</i>	Fleisch	-3 bis -8 °C
<i>Penicillium crustaceum</i>	Fleisch, Fettgewebe, Wände der Kühlräume	0 bis -8 °C
<i>Cladosporium herbarum</i>	angeschlagene Eier, Luftleitungen in Kühlhäusern, Fleisch	-5,5 °C
<i>Botrytis</i>	Kühlhäuser (Wände, Böden, Luftkanäle) Fleisch	-8 °C
<i>Mucor</i> -Arten	Fleisch	um +15 °C

EMPEY und SCOTT (1939) hatten den Oberflächenkeimgehalt von geschlachteten Rindern untersucht. Bei Bebrütungs-temperaturen von $+20^{\circ}\text{C}$ betrug der Anteil der Schimmelpilze an der Gesamtmikroflora 0,3 %, bei -1°C nur 0,1 %. Unter den bei $+20^{\circ}\text{C}$ nachweisbaren Gattungen lag *Cladosporium* in der Reihenfolge der Häufigkeit nach *Fusarium* und *Alternaria* an dritter Stelle, bei -1°C nach *Penicillium* an zweiter Stelle.

BAXTER und ILLSTON (1976) haben in Neuseeland das Vorkommen von psychrophilen Schimmelpilzen in einem Schlachthof und dessen Umgebung sowie in Verarbeitungsräumen durchgeführt und nur auf der Oberfläche von geschlachteten Rindern *C. herbarum* nachgewiesen.

GILL et al. (1981) untersuchten Gefrierlammfleisch in Neuseeland, das "black spots" aufwies, und fanden *C. herbarum* und *C. cladosporioides*, *Penicillium hirsutum* und *Aureobasidium pullulans*.

Nach LOWRY und ASHTON (1982) führen Schimmelpilze zum Verderb, wenn die Oberfläche von gekühltem Fleisch extrem trocken ist oder die Temperatur etwas unter 0°C absinkt. Experimentell gelang es, die Schwarzfleckigkeit auf Fleisch bei etwa $+10^{\circ}\text{C}$ und niedrigem a_w -Wert nach weitgehender Unterdrückung bakteriellen Wachstums, innerhalb einer Woche auszulösen.

BROOKS und KIDD schrieben bereits 1921, daß *Cladosporium herbarum* auf gekühltem und gefrorenem Fleisch noch bei -6°C zur Schwarzfleckigkeit führen könne.

Nach LOWRY und ASHTON (1982) sind Schimmelpilze bei Transportfleisch trotz moderner Kühltechnik noch immer von Bedeutung. Das Myzel von *Cladosporium* wachse subkutan auf Binde- und Fettgewebe und dringe einige Millimeter in das Fettgewebe ein. Schwarzfleckigkeit könne durch *C. herbarum*, *C. cladosporioides*, *Aureobasidium pullulans* und *Penicillium hirsutum* hervorgerufen werden und entstehe bei -3°C nach einigen Monaten, bei -5°C nach fast einem Jahr. Nach diesen Autoren sind Beobachtungen, wonach *Cladosporien* auch noch bei -8°C wachsen, "nicht korrekt". - Nach GILL u. LOWRY (1982) sowie LOWRY u. GILL (1984b) entstehen die durch *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium cladosporioides* und *Penicillium hirsutum* gebildete Schwarzfleckigkeit nicht mehr bei Temperaturen um -6°C (vgl. Tabelle 5).

LOWRY (1980) hatte früher auch noch *Penicillium corymbiferum* als Verursacher festgestellt. Das Eindringen dieser Schimmelpilze hänge von der Luftfeuchtigkeit ab, niedrige Luftfeuchtigkeit begünstige das Eindringen. *Cladosporium cladosporioides* scheint immer dabei zu sein. Die Zeit, die die einzelne Spore von *Cladosporium* benötigt, um eine Kolonie von 2 mm entstehen zu lassen, hat LOWRY wie folgt zusammengestellt:

Temperatur ($^{\circ}\text{C}$)	Lag-Phase (Wo)	Wachstumsphase (Wo)	Gesamt- entwicklungszeit (Wo)
-4,5	2,5	25,5	28,0
-3,0	1,0	8,0	9,0
-2,0	0,5	5,0	5,5
0,0	0,3	2,3	2,6

Tabelle 5: Temperaturen, bei denen Schwarffleckigkeit
möglich ist (nach Literaturangaben)

Temperatur (°C)	Autoren
0,0	MASSEE, 1912
-1,0	GILL et al., 1981
-3,0	GILL u. LOWRY, 1982
-5,0	GILL u. LOWRY, 1982
-5,5	BROOKS u. KIDD, 1921; BIDAULT, 1923; WRIGHT, 1923; BATE-SMITH u. MORRIS, 1952; LOWRY u. GILL, 1984 b
-6,0	BROOKS u. HANSFORD, 1923
-6,7	FRAZIER u. WESTHOFF, 1979
-7,5	GRACEY, 1978
-8,0	SCHÖNBERG, 1953
-9,0	KLEIN, 1923
-7,5 bis -10,0	SCHMIDT-LORENZ u. GUTSCHMIDT, 1969; INGRAM u. MACKEY, 1976
-1,0 bis -12,0	MICHENER u. ELLIOTT, 1964
-8,0 bis -12,0	NOSKOWA, 1975
-12,0 bis -15,0	MONVOISIN, 1918, 1923;

Schimmelpilzsporen, die Schwarzfleckigkeit verursachen können, gelangen während der Schlachtung und Enthäutung auf den Tierkörper, und wenn die Umgebung geeignet ist, bilden sie schwarze Flecken, die ohne eine Beschädigung der gesamten Oberflächenschicht nicht entfernt werden können. Die schwarzen Flecken haben einen Durchmesser von 2 - 6 mm und eine Tiefe von ca. 3 mm und finden sich bei Rindfleisch auf Hals, Zwerchfell und Brustfell, bei Schafffleisch auf Keulen, Hals, Brust-, Bauch- und Beckenhöhlen (NOSKOWA, 1975; GRACEY, 1978; LOWRY u. ASHTON, 1982).

In Tabelle 6 sind die bei Frisch-, Kühl- und Gefrierfleisch nachgewiesenen Schimmelpilzgattungen und -arten nochmals zusammengestellt.

Tabelle 6: Schimmelpilzgattungen und -arten, die auf Fleisch nachgewiesen wurden (die mit ^{+) versehenen Pilze wurden als Verursacher von Schwarzfleckigkeit angesehen)}

Autor / Jahr	Fleischart	Gattung	Art
TALAYRACT, 1901	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺ Mucor, Penicillium Sporotrichium, Dematium	C. herbarum
BERGER, 1912	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺	C. herbarum
MASSEE, 1912	Kühlfleisch	Cladosporium ⁺ Mucor Penicillium Oospora, Veriticillium Phycomyces	C. herbarum M. mucedo u. M. racemosus P. glaucus u. P. candidum O. carneola, V. lateritium P. nitens
SILVA, 1913	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺	C. herbarum
MONVOISIN, 1918	Gefrierfleisch	Thamnidium, Mucor ⁺ Rhizopus ⁺ , Penicillium ⁺	T. elegans, M. mucedo P. glaucum
BROOKS u. HANSFORD, 1923	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺ , Mucor, Penicillium, Sporotrichium Thamnidium Torula botryoides, Wardomyces	C. herbarum, M. racemosus, M. mucedo, M. lusitanicus S. carnis T. elegans, T. chaetocladioides W. anomala
BIDAULT, 1921/23	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺ , Hormodendrum ⁺ Botrytis, Chaetostylum Stysanus, Thamnidium	C. herbarum, (C. cladosporioides) C. fresenii S. stemonitis, T. elegans
WRIGHT, 1923	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺ , Mucor ⁺ Penicillium ⁺ , Rhizopus ⁺	C. herbarum, M. mucedo P. glaucum
SEMENIUK, 1937	Gefrierfleisch	Chaetostylum	C. fresenii
EMPEY u. SCOTT, 1939	Frischfleisch	Cladosporium ⁺	C. herbarum
BATE-SMITH u. MORRIS, 1952	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺	C. herbarum
REFAI u. LOOT, 1969	Frischfleisch	Mucor, Rhizopus u. verschiedene	
SAVOV u. KOUNEV, 1974	Gefrierfleisch	Cladosporium, Aspergillus, Penicillium, Mucor, Trichoderma, Alternaria, Thamnidium	
GRACEY, 1978	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺	C. herbarum
FRAZIER u. WESTHOFF, 1979	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺ u. andere Pilze	C. herbarum
BRYAN, 1980	Gefrierhühnchen	Cladosporium ⁺	C. herbarum
GILL et al., 1981 und LOWRY u. ASHTON, 1982	Gefrierfleisch	Cladosporium ⁺ Penicillium ⁺ , Aureobasidium ⁺	C. cladosporioides, C. herbarum, P. hirsutum, A. pullulans
LOWRY u. GILL, 1984a	Gefrierfleisch	Chrysosporium, Acremonium Thamnidium, Mucor Penicillium	C. pannorum, A. species T. elegans, M. racemosus P. corylophilum

2.2.5.2 Fleisch-Erzeugnisse

Schimmelpilze der Gattung *Cladosporium* kommen auch bei Fleisch-Erzeugnissen vor, und zwar besonders bei rohen Pökelfleischprodukten. Sie bilden schwarze Beläge und meist auch abweichenden Geruch sowie proteolytische Enzymaktivität (HADLOK, 1970, 1977; MÜGGENBURG, 1974; LEISTNER u. ECKARDT, 1981).

Vertreter der Gattung *Cladosporium* - in erster Linie *C. herbarum* - wurden aus Rohwürsten (CARBONE, 1914; WALZ, 1957; LEISTNER et al., 1965; LEISTNER u. AYRES, 1967; RACOVITA et al., 1969; HADLOK, 1969, 1970; HADLOK et al., 1976; LEISTNER, 1984) und vorwiegend aus langgereiften, luftgetrockneten Rohschinken (LEISTNER et al., 1965; LEISTNER u. AYRES, 1967; SUTIC et al., 1972) isoliert. Ein Wachstum von *Cladosporien* auf Brüh- und Kochwürsten ist nicht beschrieben worden.

LEISTNER et al. (1965) sowie LEISTNER u. AYRES (1967) untersuchten 40 Rohschinken und 27 Rohwürste auf das Vorkommen von Schimmelpilzen. Auf Rohwürsten wurden keine *Cladosporien* gefunden. Von den Schimmelpilzen auf Rohschinken gehörten 30 % zur Gattung *Cladosporium*; häufiger waren *Penicillien* und *Aspergillien*. Die Schwarzfleckigkeit von Rohschinken wurde durch *Cladosporium* verursacht.

HADLOK et al. (1976) hatten auf Rohwürsten 7 *Cladosporien*stämme nachgewiesen, 4 mal *C. cladosporioides*, 2 mal *C. herbarum* und einmal *C. sphaerospermum*.

LOTFI et al. (1983) haben in Oberägypten 75 rohe Würste, die z.T. abgetrocknet, aber in jedem Fall zum Erhitzen bestimmt waren, untersucht. Cladosporium wurde in 19,4 % der Isolate nachgewiesen. Häufiger wurde nur Aspergillus nachgewiesen. Möglicherweise beruhen diese Befunde nicht auf sekundärer Besiedlung, sondern auf der Verwendung von kontaminiertem Ausgangsmaterial.

2.3 Fleischhygienische Beurteilung von Cladosporien

Nach GRACEY (1978) sind Fleischteile mit "black spots" nicht ohne weiteres verkehrsfähig. Die Flecken müssen, sofern sie örtlich begrenzt sind, großzügig abgeschnitten werden, und das verbleibende Fleisch ist dann zum raschen Verzehr bestimmt. Ein nochmaliges Gefrieren ist zu unterlassen. Die gleiche Meinung vertrat auch NOSKOWA (1975).

In der Bundesrepublik Deutschland sind nach den AB.A zum Fleischbeschaugesetz gemäß § 34 (1) Nr. 15 mit Schimmelpilzen befallene Fleischteile, sofern sie nur an einzelnen Körperteilen vorkommen, als untauglich zu beurteilen. Mit Schimmelpilzen befallene Fleischteile zählen zuerst einmal zu den nicht zum Verzehr geeigneten Lebensmitteln gemäß § 17 (1) Nr. 5 LMBG.

Neben der Verdorbenheit ergibt sich lebensmittelhygienisch jedoch auch die Frage, ob Cladosporien nicht auch gesundheitlich bedenklich sind, zumal es unter den Schimmelpilzen auch Mykotoxinbildner gibt. In diesem Fall wäre § 8 Nr. 2 LMBG einschlägig, wonach es verboten ist, Stoffe, deren Verzehr geeignet ist, die Gesundheit zu schädigen, als Lebensmittel in den Verkehr zu bringen.

Ob es unter den Cladosporien mykotoxinbildende Arten gibt, ist bisher nicht geklärt (LEISTNER u. ECKHARDT, 1981; FRANK, 1985). Die Alimentäre Toxische Aleukie (ATA) wird von GEDEK (1980) mit dem Verzehr von unter einer Schneedecke überwintertem Getreide erklärt, das

mit Fusarien kontaminiert war. Obwohl in solchen Getreideproben neben *Fusarium sporotrichioides* und *Fusarium poae* auch *Cladosporium epiphyllum* (= *C. herbarum*; HUGHES, 1958) gefunden wurden, die in Fütterungsversuchen hoch toxisch waren (MAYER, 1953; JOFFE, 1962, 1965), handelte es sich bei der ATA (nach FRANK, 1985) um eine Vergiftung mit Fusarien-Toxinen, Cladosporien waren nur Begleitflora.

Nach REISS (1977) ist auf Brot gefundenes *C. herbarum* tödlich für Mäuse und Ratten; ein Mykotoxin sei noch nicht bekannt.

Für verschiedene bei Mensch und Tier vorkommende Mykosen werden zwar Cladosporien als Erreger genannt (RIETH, 1974; KWON-CHUNG et al., 1975; FREY et al., 1979; GEDEK, 1980), ein alimentärer Zusammenhang ist jedoch nicht erwiesen.

2.4 Maßnahmen gegen das Auftreten von Schimmelpilzen auf Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen

Schon beim Schlachten der Tiere und bei der Behandlung der Schlachttierkörper und -teile ist alles zu unternehmen, um Kontaminationen zu steuern (HOLMES, 1953; BARTELS, 1952, 1965; BARTELS u. KLEMM, 1962; BARTELS et al., 1964; HADLOK, 1967; 1970, 1971, 1977; KLARE, 1970, 1971; NOSKOWA, 1975; SCHREIBER, 1980; ABDEL-RAHMAN, 1981).

Wasserentzug, Kälte, Erhitzung und Bestrahlung sowie Anwendung von Kochsalz, Pökelfstoffen und Genußsäuren wurden im Hinblick auf die Unterdrückung von Schimmelpilzen als unterschiedlich effektiv genannt (v. SCHELHORN, 1954; HADLOK, 1967, 1977; LEISTNER u. ECKHARDT, 1981; LÜCK, 1981, 1984).

Essigsäure und unter den allgemein als Konservierungsmittel bekannten Stoffen haben vor allem Sorbinsäure und deren Salze einen spezifisch fungiziden oder fungistatischen Effekt.

3 %ige Essigsäure wurde bisher nicht für die Oberflächenbehandlung von Schlachttieren, sondern nur für Fleisch-Erzeugnisse, und zwar für Rohwürste (LEISTNER, 1956; MÜGGENBURG, 1974) und Dauerbrühwürste (HADLOK, 1967) empfohlen.

Stärkeren Effekt haben Sorbinsäure und deren Salze:

ERSCHIG (1984) hat an Fleischteilstücken eine Kombination der vier Genußsäuren (Weinsäure, Sorbinsäure, Zitronensäure und Essigsäure) auf dekontaminierenden Effekt untersucht und festgestellt, daß eine Keimverminderung zu erreichen ist und daß bei der Lagerung unter +7 °C eine Haltbarkeitsverlängerung erfolgt. Bei +12 °C war zwar auch noch eine gewisse Haltbarkeitsverlängerung zu registrieren, umgekehrt jedoch eine Begünstigung des Schimmelpilzwachstums.

Für eine Lagerung bei Temperaturen über +7 °C empfiehlt sich nach bisherigen Erfahrungen an Fleisch-
Erzeugnissen eine Kombination mit Sorbinsäure oder Sorbat.

OSTHOLD et al. (1981, 1982) und OSTHOLD (1985) verwendeten für eine kühlenergieeinsparende Lagerung bei +15 °C eine Lösung von 20 % Kaliumsorbat, 5 % Natriumacetat und 5 % Natriumchlorid. Sie erreichten damit eine Haltbarkeitsverlängerung von 2 auf 4 Tage. Auf die Hemmung von Schimmelpilzen wurde nicht speziell eingegangen.

Für die Anwendung von Sorbinsäure als Hemmstoff gegen Schimmelpilze wurde GOODING bereits 1945 ein US-Patent erteilt.

Nach LÜCK (1969) hat E. MÜLLER die hemmende Wirkung von Sorbinsäure auf Schimmelpilze bereits 1939 beschrieben. Mehrere Autoren studierten die Wirkung von Sorbinsäure auf Schimmelpilze (McGOWAN et al., 1948; BENEKE u. FABIAN, 1955; POMERANZ, 1957; BAUM u. LAMM, 1959;

KLIS et al., 1959; REHM, 1959; WINKELMANN, 1960; YORK, 1960; REHM et al., 1961; DUDMAN, 1963; LUKAS, 1964; REHM u. LÜCK, 1967; GROLL u. LÜCK, 1970; WALLHÄUSSER u. LÜCK, 1970; LÜCK, 1972; LIEWEN u. MARTH, 1984).

Seit 1953 wird Sorbinsäure bereits für die Oberflächenbehandlung von Käse empfohlen (v. SCHELHORN, 1954). In verschiedenen europäischen Ländern wurde wässrige Kaliumsorbat-Lösung zum Tauchen von Würsten gegen Schimmelpilzbefall verwendet (LÜCK, 1984).

1975 haben LEISTNER et al. die schimmelpilzhemmende Wirkung von Kaliumsorbat-Lösungen auf Rohwürste systematisch studiert. Sie empfahlen nach leichter Räucherung ein kurzes Tauchen in 10 - 20 %ige Kaliumsorbatlösung. Die Effizienz der Kaliumsorbat-Lösungen ergibt sich aus folgender Übersicht:

Konzentration der Sorbatlösung	Auftreten von Schimmelpilzbelägen nach
unbehandelte Würste	3 Tagen
5 %	10 Tagen
10 %	16 Tagen
15 %	24 Tagen
20 %	30 Tagen

LEISTNER et al. (1975) empfahlen s.Z. die Zulassung der Oberflächenbehandlung von Rohwürsten und Rohpökelfleisch mit Kaliumsorbat.

1977 wurde Kaliumsorbat für die Oberflächenbehandlung dieser Fleisch-Erzeugnisse zugelassen, wobei die Rück-

stände an Kaliumsorbat - berechnet als Sorbinsäure - in Proben von nicht mehr als 15 mm Oberflächentiefe nicht mehr als 1500 mg/kg betragen dürfen.

DINTSCHEV (1976) zitiert eine einschlägige Arbeit von MATEEV (1970) und führte auch selbst Versuche mit Sorbinsäure durch, um einem unerwünschten Schimmelpilzwachstum auf Dauerwürsten zu begegnen. Er verdampfte Sorbinsäure bei 130 - 140 °C, damit sich diese auf die Wurstopberfläche niederschlägt.

WALLHÄUSSER u. LÜCK (1978) haben für 15 %ige Kaliumsorbat-Lösung ebenfalls eine gute Wirkung gegen den auf Fleisch und Wurst vorkommenden Mykotoxinbildner *Aspergillus versicolor* festgestellt. Die mit Kaliumsorbat behandelten Würste blieben 4 Wochen lang schimmelfrei, während nicht mit Kaliumsorbat behandelte Würste innerhalb von 6 - 9 Tagen verschimmelten.

BALDOCK et al. (1979) verwendeten 10 %ige Kaliumsorbat-Lösung in Spray-Form und konnten damit bei Rohschinkenscheiben und ganzen Rohschinken 30 Tage lang gesichert Schimmelpilzwachstum unterdrücken.

HOLLY (1981) hat die Brauchbarkeit von 10 - 20 %igen Kaliumsorbat-Lösungen an italienischer Salami bestätigt. Essigsäure und Zitronensäure würden die Wirkung verstärken.

KEMP et al. (1981) untersuchten den Einfluß von Vakuumverpackung und Kaliumsorbat auf den Schimmelpilzbefall von Rohschinken. 5 - 10 %ige Kaliumsorbat-Lösungen ergaben zusammen mit Vakuumverpackung einen wesentlich verbesserten Schutz gegen Schimmelpilzbefall.

Neben Sorbinsäure wurde auch das Antibiotikum Pimaricin (Natamycin) auf seine Wirkung zur Hemmung von Schimmelpilzen auf Rohwürsten geprüft (MOERMAN, 1966, 1967, 1972; HECHELMANN u. LEISTNER, 1969; DE BOER et al., 1979; HOLLY, 1981). Trotz teilweise positiver Ergebnisse kann es für Fleisch und Fleisch-Erzeugnisse nicht empfohlen werden.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Erhebungen zum Vorkommen von Schimmelpilzen, insbesondere der Gattung Cladosporium, bei der Schlachtung von Schafen auf dem Schlachthof München

Zuerst sollte das Vorkommen von Schimmelpilzen, insbesondere der Gattung Cladosporium Link ex Fries, bei Schafen studiert werden, um den mykologischen Status zu erheben und mögliche Kontaminationsquellen und -wege aufzudecken.

3.1.1 Allgemeines zu Material und Methodik

Das zu untersuchende Material wurde von Anfang November 1984 bis Ende Februar 1985 im Städtischen Schlachthof München bei Schafschlachtungen entnommen. Es wurden Proben aus Schlachträumen (Luft, Wände, Fußböden), von Schlachttieren (Felle, Darminhalte sowie Schlachttieroberflächen) und Kühlanlagen (Kühlräume, gekühlte Transportwagen) entnommen. Die Proben wurden in sterilen Behältnissen gekühlt transportiert und sofort nach dem Eintreffen im Labor mykologisch unter-

sucht. Besonderheiten der Probenentnahme und -verarbeitung sind in den einzelnen Abschnitten angegeben.

Die Züchtung sowie die qualitative und quantitative Erfassung der Schimmelpilze erfolgte auf festen, teilweise auch in flüssigen Nährmedien. Neben den Schimmelpilzen der Gattung *Cladosporium* wurde auch das Vorkommen anderer Angehöriger der Familie *Dematiaceae* sowie der Familien *Mucoraceae*, *Moniliaceae* und *Tuberulariaceae* (*Fusarien*) registriert. Die im einzelnen hierzu verwendeten Nährmedien waren wie folgt zusammengesetzt:

Malzextrakt-Agar

Malzextrakt	30,0 g
mykologisches Pepton	5,0 g
technischer Agar	15,0 g
dest. Wasser	1000,0 ml
pH 5,4 $\pm$ 0,1	

Sabouraud-Glucose 4 %-Agar

Pepton aus Fleisch	5,0 g
Pepton aus Casein	5,0 g
D(+)-Glucose	40,0 g
Agar-Agar	15,0 g
dest. Wasser	1000,0 ml
pH 5,6 $\pm$ 0,1	

Sabouraud-Glucose 2 %-Bouillon

Pepton aus Fleisch	5,0 g
Pepton aus Casein	5,0 g
D(+)-Glucose	20,0 g
dest. Wasser	1000,0 ml
pH 5,6 $\pm$ 0,1	

Czapek-Dox-Agar

Saccharose	30,0 g
Natriumnitrat	3,0 g
Magnesiumsulfat	0,5 g
Kaliumchlorid	0,5 g
Eisen(II)-sulfat	0,01 g
Di-Kaliumhydrogenphosphat	1,0 g
Agar-Agar	13,0 g
dest. Wasser	1000,0 ml
pH 7,3 $\pm$ 0,1	

Kartoffel-Glucose-Agar

Kartoffelinfus	4,0 g
(Infus aus 200 g Kartoffeln)	
D(+)-Glucose	20,0 g
Agar-Agar	15,0 g
dest. Wasser	1000,0 ml
pH 5,6 $\pm$ 0,1	

Die Isolierung und Reinzüchtung der Schimmelpilze erfolgte in Stich- oder Strichkulturen durch Direkt-abimpfung von den Nähragarplatten oder nach Anfertigen einer Suspension vom Pilzbelag in Strichkulturen. Beim

Vorliegen von schlecht trennbaren Mischkulturen wurden Tiefenkulturen von verdünnten Sporensuspensionen entnommen. Die Bebrütung erfolgte bei 22 - 25 °C bis zu 2 Wochen; für die Differenzierung der Familie Mucoraceae waren z.T. auch Temperaturen von 30 °C erforderlich.

Nach Gewinnung von Reinkulturen durch wiederholtes Überimpfen, in der Regel auf Malzextrakt-Agar, wurde die aus dem Untersuchungsmaterial gezüchteten Cladosporien zur Konservierung auf Malzextrakt-Schrägagar übertragen.

Die Differenzierung der Schimmelpilze wurde nach Kriterien der makro- und mikroskopischen Morphologie - teilweise im Vergleich mit bereits identifizierten Typenstämmen der Gesellschaft für biotechnologische Forschung (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen - DSM) - vorgenommen.

Zur mikroskopischen Darstellung der Pilze auf Objektträgern wurde Laktophenolblaulösung, hergestellt aus 20 g krist. Phenol, 20 ml Milchsäure, 40 ml Glycerin, 20 ml dest. Wasser und 0,05 g Wasserblau oder Baumwollblau, verwendet (vgl. v. ARX, 1968; HALLMANN u. BURKHARDT, 1974; GEDEK, 1980).

Bei der Differenzierung der Gattung Cladosporium wurden insbesondere die Arbeiten von ELLIS (1971, 1976) sowie von DOMSCH et al. (1980) und SAMSON et al. (1981) berücksichtigt.

3.1.2 Luft des Schlachtraumes

3.1.2.1 Material und Methodik

Während der Schlachtung wurden an 10 verschiedenen Tagen in der Schafschlachthalle Proben gezogen.

Petrischalen mit Malzextrakt-Agar wurden für 60 Minuten ohne Deckel an 6 verschiedenen Stellen deponiert ("Sedimentationsmethode"; DE BOER et al., 1979; WALLHÄUSSER, 1984), danach verschlossen und mit einem Klebestreifen gegen Kontamination beim Transport versiegelt. Nach 10tägiger Bebrütung bei 25 °C erfolgte die Beurteilung der Kolonien.

Es ist jedoch bekannt, daß solche Ergebnisse keine quantitativen Aussagen über Keimgehalte pro Volumeneinheit erlauben, aber gute Vergleichswerte liefern.

3.1.2.2 Ergebnisse

Von den 60 Platten wurden 305 Schimmelpilze isoliert, und zwar folgende Gattungen: *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Absidia*, *Mucor*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Geotrichum*, *Thamnidium*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, *Ulocladium* und *Exophiala* (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: Aus der Luft isolierte Schimmelpilzgattungen

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
Aspergillus	90	29,5
Alternaria	43	14,1
Cladosporium	36	12,1
Penicillium	34	11,1
Scopulariopsis	12	3,9
Absidia	11	3,6
Mucor	7	2,3
Fusarium	4	1,3
Rhizopus	4	1,3
Acremonium	2	0,7
Geotrichum	2	0,7
Thamnidium	1	0,3
Trichoderma	1	0,3
Trichophyton	1	0,3
Ulocladium	1	0,3
Exophiala	1	0,3
verschiedene	55	18,0

Unter den Cladosporien waren folgende Arten:

	Anzahl der Isolate	%
C. cladosporioides	16	44,4
C. herbarum	14	38,9
C. species	6	16,7

3.1.3 Wände und Fußboden des Schlachtraumes

3.1.3.1 Material und Methodik

Die Proben wurden in Anlehnung an DE BOER et al. (1979) mittels steriler Ca-Alginat-Tupfer (an Holzstäbchen) 40 mal vom Boden, 40 mal von den Wänden entnommen, und zwar von verschiedenen Stellen (auch von Fugen). Die Tupfer wurden in Röhrchen mit 10 ml einer steriler Kochsalzlösung (85 g NaCl/l) gegeben. Danach wurden die Proben mit einem Reagenzglasschüttler (Janke & Kunkel GmbH & Co, KG) eine Minute behandelt. Von der Suspension wurden dann 0,1 ml auf Malzextraktagar-Platten übertragen und bei 25 °C 10 Tage bebrütet.

3.1.3.2 Ergebnisse

Aus den 80 Proben wurden 176 Schimmelpilze isoliert, und zwar folgende Gattungen: Aspergillus, Cladosporium, Penicillium, Alternaria, Rhizopus, Trichoderma, Absidia, Fusarium, Geotrichum, Mucor, Scopulariopsis und Acremonium (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Von den Wänden und vom Fußboden isolierte Schimmelpilzgattungen

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
Aspergillus	54	30,7
Cladosporium	43	24,4
Penicillium	10	5,7
Alternaria	9	5,1
Rhizopus	7	4,0
Trichoderma	7	4,0
Absidia	6	3,4
Fusarium	3	1,7
Geotrichum	3	1,7
Mucor	3	1,7
Scopulariopsis	2	1,1
Acremonium	1	0,6
verschiedene	28	15,9

Von den Wänden wurden die in Tabelle 9 zusammengestellten Schimmelpilzgattungen isoliert, vom Fußboden die in Tabelle 10 zusammengestellten.

Tabelle 9: Von den Wänden isolierte Schimmelpilzgattungen

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
Cladosporium	39	40,2
Aspergillus	26	26,8
Alternaria	7	7,2
Penicillium	6	6,2
Absidia	3	3,1
Scopulariopsis	2	2,1
Acremonium	1	1,0
verschiedene	13	13,4

Tabelle 10: Vom Fußboden isolierte Schimmelpilzgattungen

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
Aspergillus	28	35,4
Rhizopus	7	8,9
Trichoderma	7	8,9
Cladosporium	4	5,1
Penicillium	4	5,1
Absidia	3	3,8
Fusarium	3	3,8
Geotrichum	3	3,8
Mucor	3	3,8
Alternaria	2	2,5
verschiedene	15	19,0

Unter den Cladosporien waren folgende Arten:

	Anzahl der Isolate	%
C. cladosporioides	25	58,1
C. herbarum	15	34,9
C. sphaerospermum	3	7,0

3.1.4 Schlachttiere

3.1.4.1 Felle

3.1.4.1.1 Material und Methodik

Zur Untersuchung wurden Felle von 10 Schafen herangezogen. Von jedem Fell wurden mittels einer sterilen Schere von verschiedenen Stellen mehrere Abtrageproben entnommen und in ein steriles Gefäß gegeben.

Zur Erfassung der Schimmelpilze wurde die Gesamtprobe eines Gefäßes mittels Skalpell und Pinzette unter sterilen Bedingungen zerkleinert und gemischt. Danach wurden jeweils 10 g Probe in eine Schraubflasche mit 100 ml steriler Peptonlösung (hergestellt aus 1 g Pepton aus Fleisch, 8,5 g NaCl und 1000 ml dest. Wasser) überführt und etwa 30 Minuten geschüttelt. Anschließend wurden von dieser Suspension jeweils 0,1 ml auf eine Malzextrakt-Agarplatte und eine Sabouraud-Glucose 4 %-Agarplatte (mit Zusatz von 2 Mio. IE Penicillin und 200 mg Streptomycin/l zur Hemmung des Bakterienwachstums) ausgespatelt.

Nach einer Bebrütungszeit von 7 - 14 Tagen bei 25 °C wurden die gezüchteten Schimmelpilze isoliert und differenziert.

3.1.4.1.2 Ergebnisse

Von den 10 Proben wurden 96 Schimmelpilze isoliert, und zwar folgende Gattungen: *Aspergillus*, *Absidia*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium* und *Fusarium* (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Vom Fell isolierte Schimmelpilzgattungen

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
<i>Aspergillus</i>	36	37,5
<i>Absidia</i>	18	18,8
<i>Penicillium</i>	15	15,6
<i>Alternaria</i>	10	10,4
<i>Cladosporium</i>	6	6,3
<i>Fusarium</i>	6	6,3
verschiedene	5	5,2

Unter den Cladosporien waren folgende Arten:

	Anzahl der Isolate
<i>C. cladosporioides</i>	2
<i>C. herbarum</i>	2
<i>C. resinae</i>	1
<i>C. tenuissimum</i>	1

3.1.4.2 Darminhalte

3.1.4.2.1 Material und Methodik

Zur Untersuchung gelangten 20 Kotproben von Schafen, die sofort nach dem Ausweiden aus dem Enddarm der Tiere steril entnommen wurden.

Für die qualitative und quantitative Erfassung der Schimmelpilze wurden jeweils 10 g Kot in einen sterilen Einwegbeutel mit 90 ml steriler Peptonlösung überführt und 60 Sekunden lang im Stomacher (Colworth, "Stomacher-400") homogenisiert. Anschließend wurde von diesem Homogenisat eine Verdünnungsreihe (1:10 bis 1:100.000) angelegt und jeweils 0,1 ml auf zwei Malzextrakt-Agarplatten und eine Sabouraud-Glucose 4 %-Agarplatte (mit Zusatz von 2 Mio. IE Penicillin und 200 mg Streptomycin/l) ausgespatelt.

Das Schimmelpilzwachstum wurde nach einer Bebrütung bei 25 °C i.d.R. 14 Tage lang täglich unter dem Plattenmikroskop auf "Sternchenwachstum" überprüft. Die ausgekeimten Sporen ("Sternchen") wurden ausgestochen und auf Malzextrakt-Agar für eine spätere Differenzierung übertragen. Die Bestimmung der Schimmelpilzzahl wurde für jede Platte getrennt ermittelt und aus ihrer Summe der Mittelwert errechnet. Das Ergebnis stellte die Pilzzahl (PZ) pro Gramm Kot dar.

3.1.4.2.2 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Schimmelpilzgehalt der Kotproben sind in Tabelle 12 dargestellt.

Aus den 20 Kotproben wurden 55 Schimmelpilze isoliert, und zwar folgende Gattungen: *Aspergillus*, *Absidia*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium* und *Scopulariopsis* (siehe Tabelle 13).

Unter den Cladosporien wurden 2 Stämme *C. herbarum* nachgewiesen.

Tabelle 12: Schimmelpilzzahlen pro Gramm Kot

Probe-Nr.	Pilzzahl
1	$2,0 \times 10^4$
2	$3,1 \times 10^5$
3	$1,1 \times 10^6$
4	$2,1 \times 10^5$
5	$1,9 \times 10^6$
6	$5,0 \times 10^5$
7	k.W. ⁺)
8	$3,2 \times 10^3$
9	$1,5 \times 10^2$
10	$1,5 \times 10^2$
11	$1,0 \times 10^4$
12	$5,0 \times 10^3$
13	$1,1 \times 10^5$
14	$6,5 \times 10^2$
15	$1,0 \times 10^3$
16	$1,4 \times 10^6$
17	$1,6 \times 10^5$
18	$3,3 \times 10^5$
19	$1,4 \times 10^5$
20	$2,1 \times 10^7$

+) kein Wachstum

Tabelle 13: Aus Kot isolierte Schimmelpilzgattungen

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
Aspergillus	30	54,6
Absidia	10	18,2
Penicillium	4	7,3
Mucor	3	5,5
Alternaria	2	3,6
Cladosporium	2	3,6
Scopulariopsis	1	1,8
verschiedene	3	5,5

3.1.5 Oberflächen von Schlachttierkörpern

3.1.5.1 Material und Methodik

Das Probenmaterial wurde von 10 schlachtwarm ausgeweideten und enthäuteten Schaf-Schlachttierkörpern gewonnen. Von jedem Tierkörper wurden an fünf Stellen (Hals, beide Schultern, Brusthöhle, Bauchhöhle und Keule) jeweils eine Tupfer- und Abtrageprobe entnommen.

Die Tupfer- und Abtrageproben wurden wie unter 3.1.3.1 oder 3.1.4.2.1 behandelt. Die qualitative Untersuchung erfolgte im Oberflächenverfahren.

Nach einer Bebrütungszeit von 7 - 10 Tagen bei 25 und 30 °C wurden die aus dem Untersuchungsmaterial gezüchteten Schimmelpilze isoliert und differenziert.

3.1.5.2 Ergebnisse

Aus den 100 Proben wurden 83 Schimmelpilze isoliert, und zwar folgende Gattungen: *Aspergillus*, *Absidia*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Acremonium* und *Altermania* (siehe Tabellen 14 - 16).

Unter den *Cladosporien* wurden 2 Stämme *C. herbarum* nachgewiesen.

Tabelle 14: Auf Oberflächen von Schlachttierkörpern
ermittelte Schimmelpilze

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
Aspergillus	42	50,6
Absidia	7	8,4
Geotrichum	4	4,8
Mucor	3	3,6
Penicillium	3	3,6
Cladosporium	2	2,4
Acremonium	1	1,2
Alternaria	1	1,2
verschiedene	20	24,1

Tabelle 15: Anzahl der auf verschiedenen Fleischteilen
ermittelten Schimmelpilze

Fleischteile	Anzahl der Isolate	%
Hals	30	36,2
Brusthöhle	24	28,9
Keule	15	18,1
Schulter	9	10,8
Bauchhöhle	5	6,0

Tabelle 16: Zusammenfassende Darstellung der auf Oberflächen von Schlachttierkörpern ermittelten Schimmelpilzgattungen (Anzahl der Isolate)

Schimmelpilz- gattung	Fleischteile					%
	Hals	Schulter	Brust- höhle	Bauch- höhle	Keule	
Aspergillus	16	1	21	-	4	50,6
Absidia	2	1	2	1	1	8,4
Geotrichum	-	-	-	4	4	4,8
Mucor	2	1	-	-	-	3,6
Penicillium	-	-	-	3	-	3,6
Cladosporium	2	-	-	-	-	2,4
Acremonium	-	-	-	-	1	1,2
Alternaria	-	1	-	-	-	1,2
verschiedene	8	5	1	1	5	24,1

3.1.6 Kühlanlagen

3.1.6.1 Material und Methodik

Mittels steriler Alginat-Tupfer wurden von verschiedenen Stellen (Luft, Wände, Fußboden) eines Kühlraums und eines Kühltransportwagens Proben entnommen. Die zum selben Zeitpunkt gezogenen Proben aus der Luft wurden ebenso wie diejenigen von den Wänden und die vom Fußboden zu einer Gesamtprobe zusammengefaßt.

Die Proben wurden wie unter 3.1.3.1 behandelt. Die qualitative Untersuchung erfolgte wie oben beschrieben.

3.1.6.2 Ergebnisse

Aus 20 Gesamtproben wurden 53 Schimmelpilze isoliert, und zwar folgende Gattungen: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis* und *Rhizopus* (siehe Tabelle 17).

Unter den *Cladosporien* wurden 2 Stämme *C. cladosporioides* nachgewiesen.

Tabelle 17: Aus dem Kühlraum und dem Kühltransportwagen
isolierte Schimmelpilze

Schimmelpilz- gattungen	Anzahl der Isolate	%
Penicillium	27	50,9
Aspergillus	14	26,4
Alternaria	2	3,8
Cladosporium	2	3,8
Scopulariopsis	2	3,8
Rhizopus	1	1,9
verschiedene	5	9,4

3.1.7 Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse

Von den 290 untersuchten Proben (Luft, 60 Proben = 20,7 %; Wände und Fußboden, 80 Proben = 27,6 %; Felle 10 Proben = 3,4 %; Kot, 20 Proben = 6,9 %; Oberflächen von Schlacht-tierkörpern, 100 Proben = 34,5 %; Kühlraum und Kühltransportwagen, 20 Proben = 6,9 %) wurden 768 Schimmelpilzstämmen isoliert und gattungsmäßig aufgeschlüsselt, die Stämme der Gattung Cladosporium wurden bis zur Art differenziert.

Von den 768 isolierten Schimmelpilzstämmen gehörten 266 (34,6 %) zur Gattung Aspergillus, 93 (12,1 %) zu Penicillium, 91 (11,9 %) zu Cladosporium und 202 (26,3 %) zu weiteren 13 Gattungen, und zwar Alternaria, Absidia, Scopulariopsis, Mucor, Fusarium, Rhizopus, Geotrichum, Trichoderma, Acremonium, Thamnidium, Trichophyten, Ulocladium und Exophiala. 116 (15,1 %) isolierte Pilzstämmen ("verschiedene") waren mittels der geprüften Kriterien nicht zu identifizieren (siehe Tabelle 18).

Die Gattung Aspergillus, gefolgt von Penicillium und Cladosporium, herrschten in der Gesamtheit der isolierten Pilze vor.

In der Luft lautete die Reihenfolge Aspergillus, Alternaria, Cladosporium und Penicillium,

an Wänden und Fußböden Aspergillus, Cladosporium und Penicillium,

auf Fellen Aspergillus, Absidia, Penicillium, Alternaria, Cladosporium und Fusarium,

in Kühlanlagen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*,
Alternaria und *Scopulariopsis*,

in Darminhalten *Aspergillus*, *Absidia*, *Penicillium*, *Mucor*
und *Cladosporium*,

auf Oberflächen von Schlachttierkörpern *Aspergillus*,
Absidia, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium* und *Cladosporium*.

Aus dieser Verteilung ergibt sich trotz gebotener
Zurückhaltung wegen der unterschiedlichen Wachstums-
bedingungen eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß
Darminhalte die Hauptinfektionsquelle für die Ober-
flächen von Schlachttierkörpern sind.

Innerhalb der besonders interessierenden 91 Stämme der
Gattung *Cladosporium* waren folgende Arten vertreten:
C. cladosporioides (45 = 49,5 %), *C. herbarum* (35 = 38,5 %),
C. species (6 = 6,6 %), *C. sphaerospermum* (3 = 3,3 %),
C. resinae (1 = 1,1 %) und *C. tenuissimum* (1 = 1,1 %)
(siehe Tabelle 19).

In der Luft fanden sich in absteigender Reihenfolge
C. cladosporioides, *C. herbarum* und *C. species*,

an Wänden und Fußboden *C. cladosporioides*, *C. herbarum*
und *C. sphaerospermum*,

auf Fellen war *C. cladosporioides*, *C. herbarum* sowie
C. resinae und *C. tenuissimum*,

in Kühlanlagen nur *C. cladosporioides* und

in Darminhalten sowie auf Oberflächen von Schlachttier-
körpern nur *C. herbarum*.

Die Übereinstimmung der in Darminhalten und auf Ober-
flächen von Schlachttierkörpern vorkommenden *Cladosporien*-
Art stärkt die Vermutung, daß Darminhalte die Haupt-
infektionsquelle sind.

Tabelle 18: Anzahl der insgesamt isolierten Schimmelpilzgattungen (% in Klammer)

Proben Schimmelpilzgattungen	Luft	Wände und Fußboden	Felle	Darm- inhalte	Tierkörper- ober- fläche	Kühl- anlagen	insgesamt
Aspergillus	90(29.5)	54(30.7)	36(37.5)	30(54.6)	42(50.6)	14(26.4)	266(34.6)
Penicillium	34(11.1)	10(5.7)	15(15.6)	4(7.3)	3(3.6)	27(50.9)	93(12.1)
Cladosporium	36(12.1)	43(24.4)	6(6.3)	2(3.6)	2(2.4)	2(3.8)	91(11.9)
Alternaria	43(14.1)	9(5.1)	10(10.4)	2	1(1.2)	2(3.8)	67(8.7)
Absidia	11	6	18(18.8)	10(18.2)	7(8.4)	-	52(6.2)
Scopulariopsis	12	2	-	1	-	2(2.8)	17(2.2)
Mucor	7	3	-	3(5.5)	3(3.6)	-	16(2.1)
Fusarium	4	3	6	-	-	-	13(1.7)
Rhizopus	4	7	-	-	-	1	12(1.6)
Geotrichum	2	3	-	-	4(4.8)	-	9(1.2)
Trichoderma	1	7	-	-	-	-	8(1.0)
Acremonium	2	1	-	-	1	-	4(0.5)
Thamnidium	1	-	-	-	-	-	1(0.1)
Trichophyton	1	-	-	-	-	-	1(0.1)
Ulocladium	1	-	-	-	-	-	1(0.1)
Exophiala	1	-	-	-	-	-	1(0.1)
verschiedene	55	28	5	3	20	5	116(15.1)
insgesamt	305	176	96	55	83	53	768

Tabelle 19: Anzahl der insgesamt differenzierten Cladosporium-Arten

Proben C. Arten	Luft	Wände und Fußboden	Felle	Darm- inhalte	Tierkörper- oberfläche	Kühl- anlagen	insgesamt (%)
C.clado- sporioides	16	25	2	-	-	2 ¹⁾	45 (49.5)
C. herbarum	14	15	2	2	2 ²⁾	-	35 (38.5)
C. species	6	-	-	-	-	-	6 (6.6)
C. sphaerospermum	-	3 ³⁾	-	-	-	-	3 (3.3)
C. resiniae	-	-	1 ⁴⁾	-	-	-	1 (1.1)
C. tenuissimum	-	-	1 ⁵⁾	-	-	-	1 (1.1)
insgesamt	36	43	6	2	2	2	91

1) siehe Abb. 7

2) siehe Abb. 8

3) siehe Abb. 9

4) siehe Abb. 10

5) siehe Abb. 11

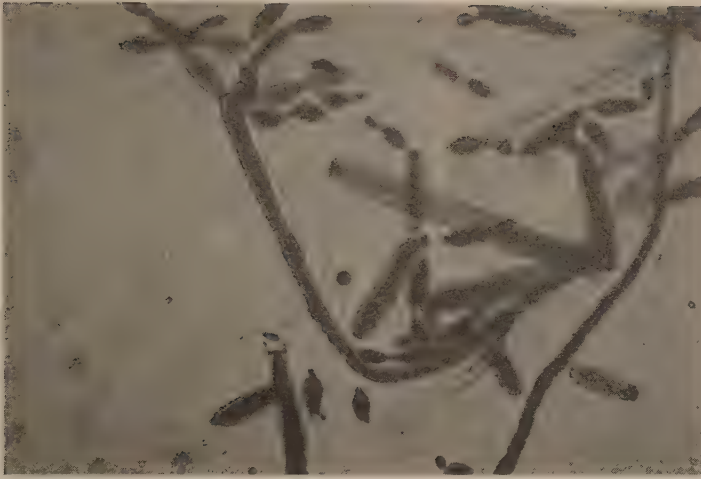


Abb. 7: *Cladosporium cladosporioides*
(Malzextrakt-Agar, 7 Tage bei 25 °C, Laktophenolblau, x 100)

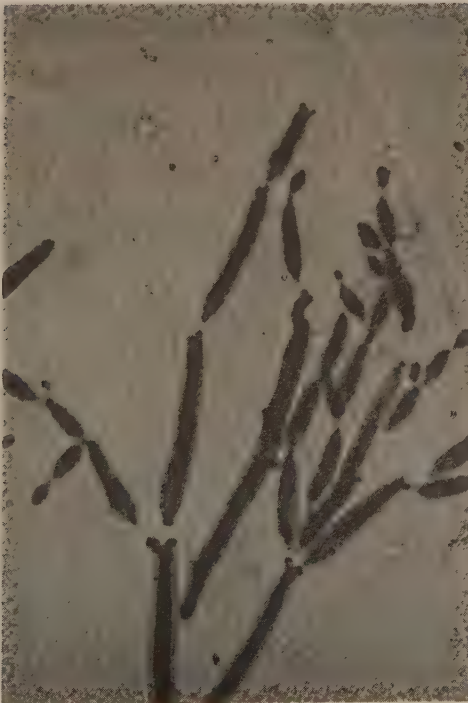


Abb. 8: *Cladosporium*
herbarum
(Malzextrakt-Agar,
7 Tage bei 25 °C,
Laktophenolblau, x 100)

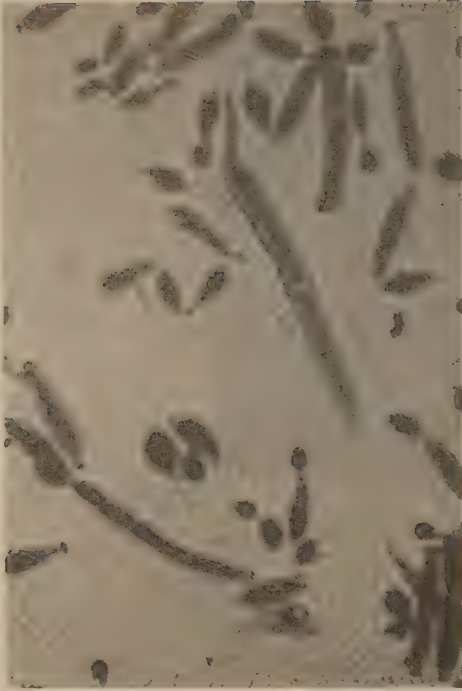


Abb. 9: *Cladosporium sphaerospermum*
(Malzextrakt-Agar, 7 Tage bei 25 °C,
Laktophenolblau, x 100)



Abb. 10: *Cladosporium resinae*
(Malzextrakt-Agar, 7 Tage bei 25 °C
Laktophenolblau, x 100)

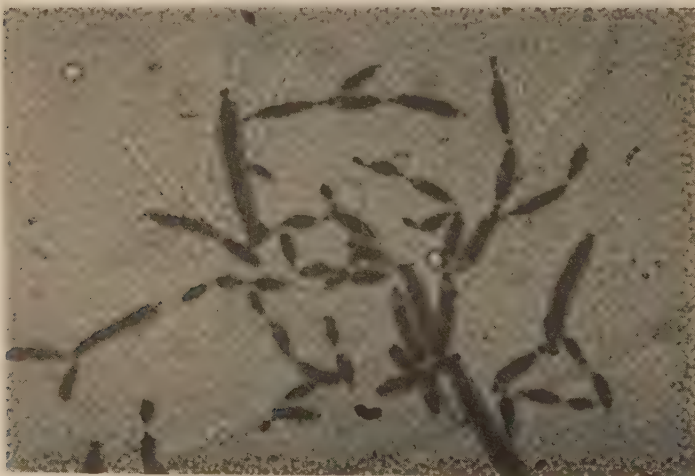


Abb. 11: *Cladosporium tenuissimum*
(Malzextrakt-Agar, 7 Tage bei 25 °C, Laktophenolblau, x 100)

3.2 Versuche zum Wachstum und zur Hemmung von
Cladosporium-Stämmen auf Fleischteilstücken
von Schafen

3.2.1 Vorversuche

Die Studien waren letztlich an ganzen Lammkeulen geplant. Um Material zu sparen, wurden zuerst Fleischteilstücke in der Größe 5 x 5 x 1 cm aus der Tiefe von Keulen steril entnommen und zuerst nur durch Tauchen, in einer zweiten Reihe durch Tauchen und Injektion von gleich großen Teilstücken aus Keulenoberflächen mit folgenden Sporensuspensionen beimpft:

Cladosporium herbarum	$1,8 \times 10^5$
Cladosporium cladosporioides (1)	$4,5 \times 10^5$
Cladosporium sphaerospermum	$5,0 \times 10^5$
Cladosporium cladosporioides (2)	$4,0 \times 10^5$

Die beimpften Teilstücke wurden in sterilen Glaspetrischalen in einem Klimaschrank bei -2°C (± 1) und einer Luftfeuchtigkeit von durchschnittlich 85 % 18 Wochen gelagert und in Abständen von 7 Tagen kontrolliert.

Diese Temperatur und Luftfeuchtigkeit wurden deshalb gewählt, weil nach umfangreichen eigenen Versuchen auf Nährböden und nach Angaben in der Literatur über Versuche an Fleischteilstücken (GILL et al., 1981; GILL u. LOWRY, 1982) Cladosporien unter diesen Bedingungen am

sichersten wuchsen. Außerdem entsprechen sie dem Transport von Schafffleisch aus Exportländern.

Nach 12 Wochen war auf keinem der Fleischteilstücke Schwarzfleckigkeit zu beobachten, wohl aber starker Hefenbefall. Offenbar haben Hefen das Wachstum von Cladosporien unterdrückt. Der gleiche Befund war auch bei einer sekundären Dekontamination der Fleischteilstücke mittels einer Mischung von Genußsäuren zu notieren, die durchgeführt wurde, um selektiv Bakterien zu unterdrücken.

Ebenfalls für orientierende Zwecke wurde ein Stück des Halses in eine Mischsuspension von *C. cladosporioides* und *C. herbarum* getaucht und bei +4 bis +8 °C in einem normalen Kühlschrank isoliert aufbewahrt. Nach 2 Wochen hatten sich stecknadelkopfgroße schwarze Flecken entwickelt. Bei mikroskopischen Untersuchungen wurde *C. herbarum* festgestellt.

Nachdem erwartet worden war, daß auf beimpften Fleischteilstücken Schwarzfleckigkeit auftritt, wurden beimpfte Fleischteilstücke nach 60 Minuten in 0,25 %ige Sorbinsäure-Lösung, die sich in Modellversuchen auf Nährmedien als am wirksamsten erwiesen hatte, und in einer weiteren Reihe in eine Kaliumsorbat-Lösung nach OSTHOLD et al. (1981) - 20 g Kaliumsorbat, 5 g Natriumacetat, 5 g Natriumchlorid ad 100 ml H₂O - getaucht. Bei diesem Parallelversuch ist letztlich auch keine Schwarzfleckigkeit aufgetreten, ein geringeres Hefewachstum war zu notieren.

Nachdem bei den gesamten Versuchen keine brauchbaren Anhaltspunkte für die Durchführung der Hauptversuche festgehalten werden konnten, wurde auf eine genaue Beschreibung der Versuche verzichtet.

3.2.2 Hauptversuche

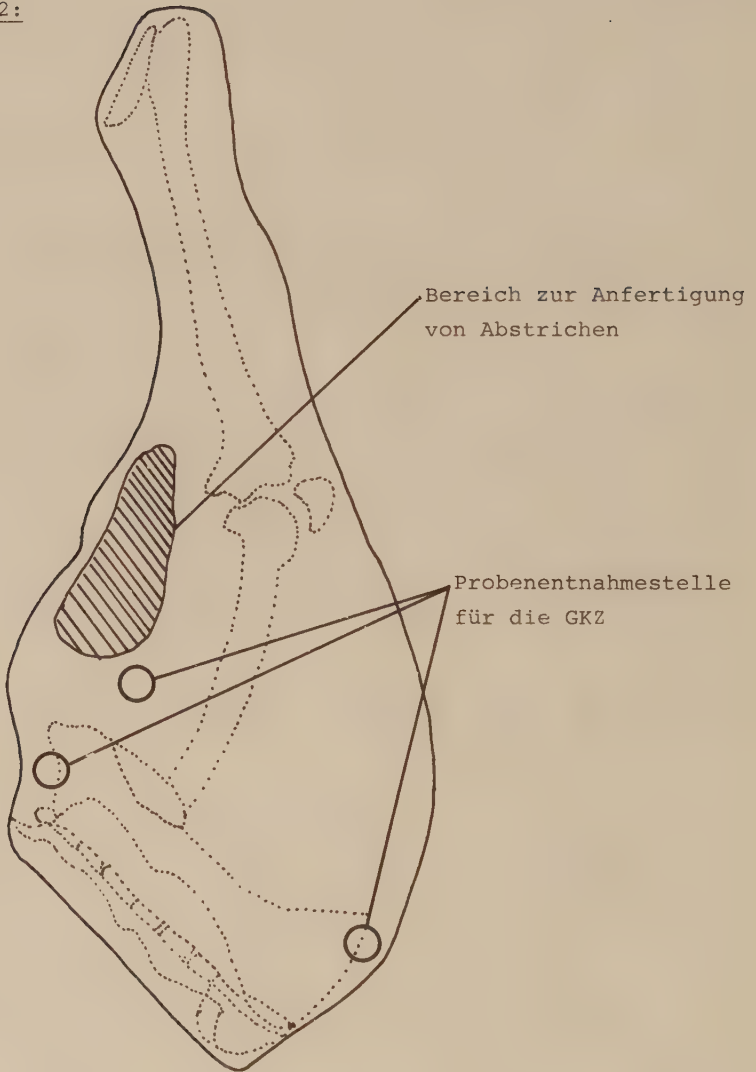
3.2.2.1 Material und Methodik

Für die Hauptversuche wurden 7 Lammkeulen verwendet, die auf dem Schlachthof München gekauft worden waren und im Durchschnitt 2,5 kg wogen.

Um die Lammkeulen auch bezüglich ihrer mikrobiellen Beschaffenheit zu charakterisieren, wurden an den in der Abbildung 12 markierten Stellen Proben für Gesamtkeimzahlbestimmungen entnommen, und zwar bei einer Tiefe von etwa 5 mm in einer Gesamtmenge von je 10 g. Die Proben wurden in ein Gefäß mit 90 ml steriler Peptonlösung (siehe 3.1.4.1.1) überführt und mit Ultra-Turrax homogenisiert. Die Gesamtkeimzahlbestimmungen erfolgten nach Anlegen von Verdünnungsreihen im Oberflächenverfahren. Als Nährmedium wurde Standard I-Nähragar (Fa. Merck) verwendet. Folgende Gesamtkeimzahlen wurden ermittelt:

Nummer der Keulen	GKZ / cm ²
1	$1,2 \times 10^6$
2	$1,8 \times 10^7$
3	$4,2 \times 10^6$
4	$1,7 \times 10^7$
5	$1,3 \times 10^7$
6	$1,1 \times 10^7$
7	$1,6 \times 10^7$

Abb. 12:



Als Testkeime dienten folgende *Cladosporium*-Arten:
C. herbarum, *C. cladosporioides* und *C. sphaerospermum*.

Für die Züchtung der Schimmelpilze wurde Malzextrakt-Agar (Fa. Oxoid) verwendet. Die Bebrütung erfolgte 10 Tage bei 25 °C. Danach wurden die Cladosporien durch direkte Abimpfung von den Nähragarplatten auf Malzextrakt-Schrägagar (in 200 ml-Kolben) übertragen und erneut 10 Tage inkubiert.

Zur Herstellung der Sporensuspensionen wurde die Oberfläche des Schrägagars mit 30 ml sterilem dest. Wasser etwa 3 - 5 Minuten geschüttelt. Danach kamen 25 ml der Suspension in eine Verdünnungsflasche mit 100 ml steriler Kochsalzlösung, wurden erneut geschüttelt und dann mit 3875 ml Leitungswasser in einen 10 Liter-Behälter gegeben. Anschließend wurde die Sporenzahl nach dem Oberflächenverfahren auf Malzextrakt-Agarplatten bestimmt.

Für die Versuche wurden 6 Sporensuspensionen hergestellt, und zwar eine mit *C. herbarum*, eine mit *C. cladosporioides* und vier mit einer Mischung von *C. herbarum*, *C. cladosporioides* und *C. sphaerospermum*.

Die Beimpfung von 6 Lammkeulen erfolgte durch Tauchen. Die 7. Keule ist unbehandelt geblieben. Anschließend wurden die Keulen 12 Stunden bei Zimmertemperatur abgelagert, um ein gewisses Haften der Sporen abzuwarten. Zwei der mit der Cladosporienmischung beimpften Keulen wurden ebenfalls durch Tauchen mittels einer 0,25 %igen Sorbinsäurelösung⁺⁾ oder Kaliumsorbatlösung (OSTHOLD et al., 1981) dekontaminiert.

⁺⁾ Bei Versuchen in Nährmedien hatte sich 0,25 %ige Sorbinsäure als am wirksamsten erwiesen.

Eine mit Cladosporienmischung beimpfte Keule wurde ebenfalls nach 12 Stunden im Wasser getaucht, um den Spüleffekt besonders zu berücksichtigen.

Die so behandelten Lammkeulen und die unbehandelte Kontrolle wurden dann bei -2°C (± 1), 85 % relativer Luftfeuchtigkeit und geringer Luftbewegung hängend in einem Klimaschrank (RUMED 3206, RUBARTH) 20 Wochen gelagert.

Das Prüfen auf Schimmelpilzwachstum (visuell und kulturell) erfolgte in den ersten drei Monaten wöchentlich, später täglich.

Der pH-Wert und die Temperatur in der Tiefe der Keulen sowie die Luftfeuchtigkeit wurden während der Kühl-lagerung in jeweils 7tägiger Abstand kontrolliert.

Zur Messung der pH-Werte wurde das Digital-pH-Meter Portmess 651 (KNICK) in Verbindung mit den Einstabmeßketten Typ 403-KN auf Oberflächen, Typ 406-M6-KN im Einstich und Typ 405-KN in Homogenisaten (alle INGOLD) eingesetzt. Gemessen wurde in 5 - 6 cm Tiefe.

Temperatur und relative Luftfeuchte wurden mittels Hygrotest Sekunden-Thermo-Hygrometer Testo 6400 (TESTOTERM) gemessen; die Luftfeuchte unter Verwendung des Feuchte- und Temperaturfühlers 9764, die Kerntemperatur unter Verwendung des Temperaturfühlers 0473.

3.2.2.2 Ergebnisse des Hauptversuchs

Drei Wochen nach Beginn bis zur Beendigung des Versuches war auf den Lammkeulen grobsinnlich Hefenwachstum festzustellen, allerdings unterschiedlich stark. Bei den mit Sorbinsäure- und Sorbatlösung behandelten Keulen war das Hefenwachstum geringer, z.T. fast ganz unterdrückt. "Schwarzfleckigkeit" war nur bei der Lammkeule zu beobachten, die mit *C. cladosporioides* beimpft war. Die Flecken waren dunkel olivgrün, hatten 2 x 5 mm Durchmesser und reichten als dunkelgraues Myzel etwa 2 mm in das Gewebe. Bei der kulturellen Untersuchung eines Flecks wurde *C. cladosporioides* festgestellt.

Auf den anderen Lammkeulen waren keine Flecken auszumachen. Auf der Oberfläche der nur mit *C. herbarum* beimpften Lammkeule konnte kulturell dieselbe *Cladosporium*-Art wieder gefunden werden. Das gleiche gilt für die Lammkeule, die mit der Mischkultur beimpft worden war, drei *Cladosporium*-Arten konnten kulturell wieder nachgewiesen werden. Obwohl bei dieser Lammkeule *C. cladosporioides* beteiligt war, verursachte es auf dieser Lammkeule keine dunklen Flecken. Nachdem die dekontaminierten Lammkeulen nur mit dem Gemisch beimpft worden waren, konnten bei ihnen a priori keine Flecken erwartet werden; kulturell waren bei dieser Lammkeule keine Schimmelpilze mehr nachzuweisen. Das gleiche galt für die unbeimpfte Kontrolle. Auf der beimpften und nur mit Wasser behandelten Keule waren die drei Schimmelpilzarten nachzuweisen, so daß damit der dekontaminierende Effekt der Sorbin- und Sorbatlösung belegt ist.

Aus dem Verlauf der Temperaturen und der pH-Werte in der Tiefe der Keulen (siehe Abbildungen 13, 14) ergibt sich kein Anhaltspunkt für eine Begünstigung von *C. cladosporioides*.

Abb. 13: Temperaturverlauf in der Tiefe der Lammkeulen während der Lagerung bei -2°C

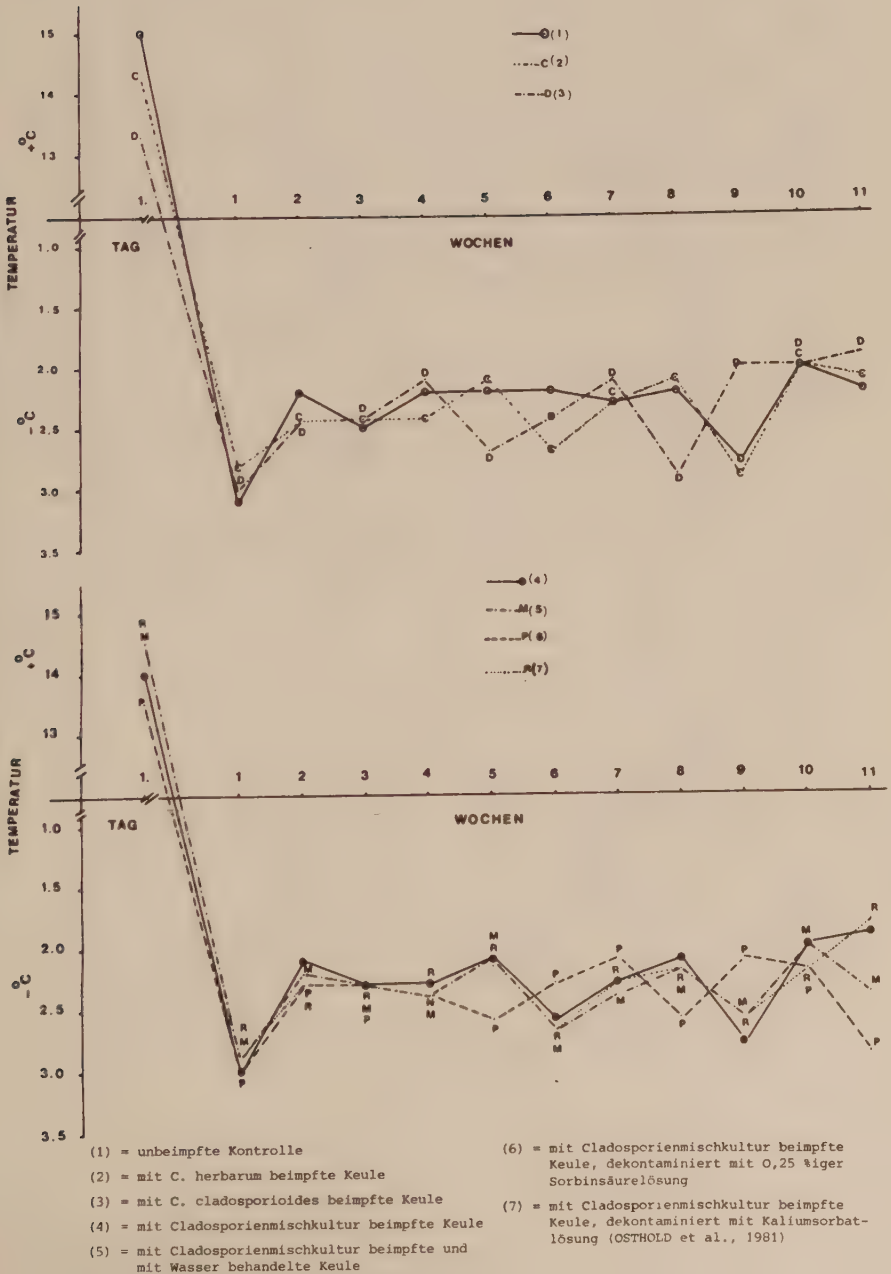
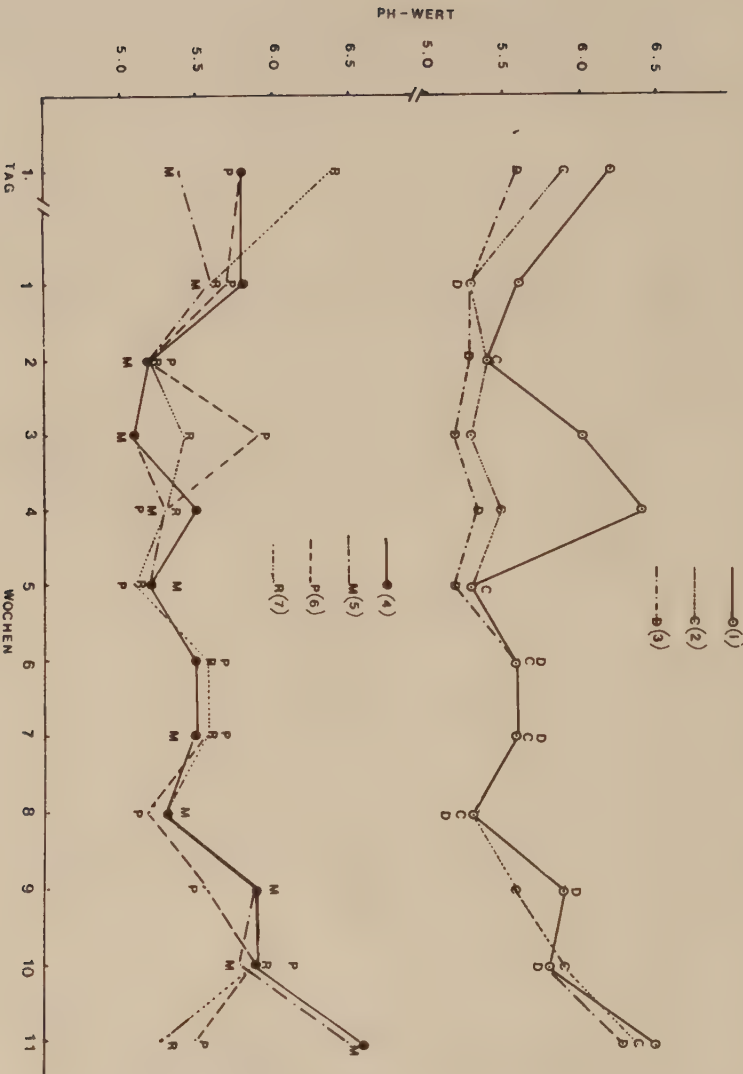


Abb. 14: PH-Werte der Lammkeulen im Verlauf der Lagerung bei -2°C
(Erläuterungen von 1 - 7 siehe Abbildung 13)



4 DISKUSSION

HIRST (1953), PADY u. KAPICA (1956), RICHARDS (1956), KRAMER et al. (1959), PADY (1959), GREGORY (1954), PATHAK u. PADY (1965) und HUDSON (1969) haben aufgrund mykologischer Luftuntersuchungen die Luft als Hauptkontaminationsquelle für Schimmelpilzbefall angegeben. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse der Untersuchungen im Schlachtraum des Münchner Schlachthofes für Schlachttierkörperoberflächen beim Schlachtvorgang nicht bestätigt, weil der qualitative Schimmelpilzbefall auf den Oberflächen der Schlachttierkörper nicht dem der Luft entsprach, sondern mehr dem der Darminhalte. Ob es sich bei dieser Kontamination um ein in der Praxis unvermeidliches Geschehen handelt oder ob durch Verbesserung der Schlachthygiene Abhilfe oder wenigstens eine Verminderung der Kontamination zu erreichen ist, muß offen bleiben.

Wie bei Schlachttieren im Hinblick auf das Vorkommen von Salmonellen allgemein empfohlen (OZARI u. KOTTER, 1986), ergibt sich auch aus meinen Studien bei der Lammfleischgewinnung die Zweckmäßigkeit einer nach der Schlachtung durchzuführenden Dekontamination. Lammfleischkörper, die für eine längere Lagerung bestimmt sind, sollten unter Beteiligung von Sorbinsäure- oder Kaliumsorbatlösung dekontaminiert werden. Es war erwartet worden, daß die Schwarzfleckigkeit auch bei der Beimpfung mit dem Gemisch auftritt. Da dies nicht der Fall war, ist es ein Mangel dieser Versuche, daß nicht genügend Lammkeulen zur Verfügung standen, um auch eine Lamm-

keule mit Sorbinsäure oder Sorbatlösung zu behandeln, die nur mit *C. cladosporioides* beimpft war. Außerdem waren bei einer größeren Anzahl von Lammkeulen die Ergebnisse insgesamt abzusichern gewesen.

KLARE (1970) und ABDEL-RAHMAN (1981) haben zahlreiche Kotproben mykologisch untersucht und den Kot der Schlachttiere als nicht zu vernachlässigende Kontaminationsquelle angesehen. Ein direkter Zusammenhang wurde nicht aufgedeckt.

REFAI und LOOT (1969) untersuchten Luft, Wände und Boden sowie Oberflächen von Schlachttierkörpern und kamen zum Schluß, daß die Luft für Schlachttierkörper die Hauptkontaminationsquelle ist. Dazu sei vermerkt, daß diese in Kairo durchgeführten Untersuchungen unter anderen Bedingungen durchgeführt wurden, weil dort andere Verhältnisse gegeben sind als in München, weil in Kairo eher Kot von Schlachttieren trocknen kann und dann leichter Sporen von der Oberfläche auf dem Luftwege übertragen werden können. In München ist ein feuchtes Klima gegeben; außerdem wurden meine Untersuchungen in den Wintermonaten durchgeführt.

Schließlich wurden von REFAI und LOOT (1969) keine Darminhalte untersucht. Es wird in allen Schlachtanlagen darauf ankommen, anfallenden Kot möglichst rasch so zu isolieren, daß eine Trocknung und anschließende Verbreitung auf dem Luftwege weitgehend ausgeschlossen ist.

5 ZUSAMMENFASSUNG

1. 768 Schimmelpilzstämmen wurden bei der Schlachtung von Schafen auf dem Schlachthof aus Schlachträumen (Luft, Wände, Fußboden), von Schlachttieren (Felle, Darminhalte) sowie von Oberflächen von Schlachttierkörpern und Kühlanlagen (Kühlräume, gekühlte Transportwagen) isoliert und nach Gattungen aufgeschlüsselt. Isolierte Stämme der Gattung *Cladosporium* Link ex Fries wurden bis zur Art differenziert und dann auf gekühltem und gefrorenem Schafffleisch geprüft, ob sie "Schwarzfleckigkeit" verursachen.
2. Von den 768 isolierten Pilzstämmen waren die Gattungen von *Aspergillus* (266 = 34,6 %), *Penicillium* (93 = 12,1 %) und *Cladosporium* (91 = 11,9 %), mitunter auch *Alternaria* (67 = 8,7 %), *Absidia* (52 = 6,2 %), *Scopulariopsis* (17 = 2,2 %), *Mucor* (16 = 2,1 %), *Fusarium* (13 = 1,7 %) und *Rhizopus* (12 = 1,6 %), am häufigsten.

Die 91 isolierten *Cladosporium*-Stämme verteilten sich auf die Arten von *C. cladosporioides* (45 = 49,5 %), *C. herbarum* (35 = 38,5 %), *C. species* (6 = 6,6 %), *C. sphaerospermum* (3 = 3,3 %), *C. resinae* (1 = 1,1 %) und *C. tenuissimum* (1 = 1,1 %). Nahezu alle Stämme wurden von Wänden (39 = 42,9 %) und aus der Luft (36 = 39,6 %) isoliert, die restlichen von Fellen (6 = 6,6 %), vom Fußboden (4 = 4,4 %), aus Darminhalten (2 = 2,2 %) und aus dem Kühlraum (2 = 2,2 %).

3. Der qualitative Schimmelpilzbefall auf den Oberflächen von frischen Schlachttierkörpern entsprach nicht dem der Luft, die von mehreren Autoren als eine der Hauptinfektionsquellen angegeben worden ist, sondern dem der Darminhalte. Die bei der Fleischbearbeitung häufig mögliche Luftkontamination betrifft offenbar mehr die spätere Behandlung der Schlachttierkörper (Transport, Lagerung usw.).
4. Nachdem bei den Vorversuchen an Fleischteilstücken von Schafen weder die Angaben in der Literatur (GILL et al., 1981; GILL u. LOWRY, 1982) bestätigt wurden, noch brauchbare Anhaltspunkte für die Durchführung der Hauptversuche festgehalten werden konnten und weil inzwischen Dekontaminationsmöglichkeiten aktuell geworden waren, wurde neben Wachstum auch die Hemmung von *C. cladosporioides*, *C. herbarum* und *C. sphaerospermum* an ganzen Lammkeulen studiert. Kontamination mittels Sporensuspensionen und teilweise anschließende "Dekontamination" mittels einer 0,25 %igen Sorbinsäure- oder einer Kaliumsorbat-Lösung nach OSTHOLD et al. (1981) erfolgten im Tauchverfahren.
5. Bei allen Lammkeulen war nach 18 Wochen Lagerung bei -2°C ein unterschiedlich starkes Hefenwachstum festzustellen. "Schwarzfleckigkeit" war nur bei der Lammkeule zu beobachten, die mit *C. cladosporioides* beimpft wurde. Auf den anderen Lammkeulen waren keine schwarzen Flecken auszumachen. Außer auf den mit Sorbinsäure- oder Kaliumsorbatlösung dekontaminierten Keulen konnten jedoch die jeweils beimpften *Cladosporium*-Arten kulturell wieder nachgewiesen werden. Damit konnte der dekontaminierende Effekt der Sorbinsäure- und der Kaliumsorbat-Lösung belegt werden.

About the Existence of Moulds of the Genus Cladosporium
Link ex Fries on Mutton

6 SUMMARY

1. 768 strains of moulds have been isolated during the slaughtering of sheep from the rooms of a slaughter-house (air, walls, floor), from the animals (skins, intestinal contents) as well as from surfaces of carcasses and cold-storage plants (cold-storage chambers, refrigerator lorries). These strains have been classified by genera. Isolated strains of the genus *Cladosporium* Link ex Fries have been differentiated to the species and have afterwards been tested whether they cause "black spots" on cold or frozen mutton.
2. From the 768 isolated strains of moulds the following frequencies of the different genera have been found: *Aspergillus* (266 = 34,6 %), *Penicillium* (93 = 12,1 %), *Cladosporium* (91 = 11,9 %), *Alternaria* (67 = 8,7 %), *Absidia* (52 = 6,2 %), *Scopulariopsis* (17 = 2,2 %), *Mucor* (16 = 2,1 %), *Fusarium* (13 = 1,7 %) and *Rhizopus* (12 = 1,6 %).

From the 91 isolated *Cladosporium* strains the following frequencies of the different species have been found: *C. cladosporioides* (45 = 49,5 %), *C. herbarum* (35 = 38,5 %), *C. species* (6 = 6,6 %), *C. sphaerospermum* (3 = 3,3 %), *C. resinae* (1 = 1,1 %) und *C. tenuissimum* (1 = 1,1 %). Nearly all strains have been isolated from the walls (39 = 42,9 %) and from the air (36 = 39,6 %), the rest came from skins (6 = 6,6 %), from the floor (4 = 4,4 %), from intestinal contents (2 = 2,2 %) and from a cold-storage chamber (2 = 2,2 %).

3. The qualitative growth of moulds on the surfaces on freshly slaughtered animals was different from that of the air, that a number of authors stated as the main origin of infection, but equalled that of the intestinal contents. The possible contamination by air during the meat processing obviously occurs more often during subsequent treatment of the slaughtered animals (transport, storage and so on).
4. After preexperiments with parts of mutton neither data from the literature (GILL et al., 1981; GILL and LOWRY, 1982) could be confirmed nor could we achieve useful criteria for the performance of main experiments. In the meantime possibilities of decontamination had become topical. For that reason we studied growth and growth inhibiting of *C. cladosporioides*, *C. herbarum* and *C. sphaerosperum* on whole lamb legs. Contamination with spore suspensions and partially afterwards "decontamination" with solutions of 0,25 per cent sorbic acid or potassium sorbate (OSTHOLD et al., 1981) have been carried out by dipping.
5. After 18 weeks of storage at a temperature of -2°C a differently strong growth of yeast on all the lamb legs could be observed. "Black spots" could only be found on the lamb leg that had been inoculated with *C. cladosporioides*. On the other lamb legs "black spots" could not be detected. Beside the legs that had been decontaminated with solutions of sorbic acid or potassium sorbate in each of the inoculated cases however the specific *cladosporium* species could be detected anew. The decontaminating effect of solutions of sorbic acid or of potassium sorbate could thus be substantiated.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ABDEL-RAHMAN, H.A. (1981):

Über das Vorkommen von Schimmelpilzen in den
Faeces von Schwein und Rind aus fleischhygie-
nischer Sicht unter besonderer Berücksichtigung
der Gattung *Penicillium*.

Vet.med.Diss., Gießen;

ADAMS, K.F. (1964):

Year to year variation in the fungus spore content
of the atmosphere.

Acta allerg. 19, 11;

AHMED, F.A., Y.Y. KAMEL und H.A. ABDEL-RAHMAN (1984):

Microbial studies of dust particles in farm
buildings in Upper Egypt.

Assiut Vet. Med. J. 12, 151;

AINSWORTH, G.C. (1952):

The incidence of air-born *Cladosporium* spores
in the London region.

J. Gen. Microbiol. 7, 358;

AINSWORTH, G.C. (1961):

Dictionary of the fungi. 5th ed.,
Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey;
Bulter and Tanner Ltd., London;

ARX, J.A. von (1968):

Pilzkunde.

Verlag Cramer, Lehre;

BALDOCK, J.D., P.R. FRANK, P.P. GRAHAM, und F.J. IVEY (1979):

Potassium sorbate as a fungistatic agent in country
ham processing.

J. Food Prot. 42, 780;

BARKAI-GOLAN, R. (1958):

A study of airborne fungi in Israel.

Bull. Res. Council, Israel 6 D, 247

zit. in PADY et al. (1969);

BARKAI-GOLAN, R. und I. GLAZER (1962):

Airborn fungi in Eliat and Tel-Hashomer, Israel.

J. Allergy 33, 342;

BARTELS, H. (1952):

Die Wasch- und Sterilisationssäule.

Fleischwirtschaft 4, 219;

BARTELS, H. (1965):

Bedeutung und Möglichkeiten der Anwendung moderner
Lebensmittelhygienischer Maßnahmen in tropischen
Gebieten.

Fleischwirtschaft 45, 759;

BARTELS, H., R. HADLOK und F.H. KÄFERSTEIN (1964):

Bedeutung der Trennung von Schlachträumen und
Fleischbearbeitungsräumen.

Fleischwirtschaft 16, 1203;

BARTELS, H. und G. KLEMM (1962):

Die hygienische Bedeutung des Schlachtens der
Rinder im Hängen.

Fleischwirtschaft 14, 645;

BATE-SMITH, E.C. und T.N. MORRIS (1952):

Food science. A symposium on quality and preservation of foods.

University Press, Cambridge, p. 178;

BATISTA, A.C., C.T. DE VASCONCELOS, O. FISCHMANN und
F. STAIB (1961):

Fungos leveduriformes e filamentosos de bovinos
no Recife.

Publ. Inst. Micol. Univ. Recife (Brasilia)

zit. nach ABDEL-RAHMAN, H.A. (1981);

BAUM, F. und H. LAMM (1959):

Versuche zum Nachweis von Konservierungsmitteln
mit dem Agar-Diffusionstest (Lochtest).

Ernährungsforschung 4, 84;

BAXTER, M. und G.M. ILLSTON (1976):

Psychrotrophic meat spoilage fungi within a freezing
works.

New Zealand Vet. J. 24, 177;

BENEKE, E.S. und F.W. FABIAN (1955):

Sorbic acid as a fungistatic agent at different
pH levels for moulds isolated from strawberries
and tomatoes.

Food Technol. 9, 486;

BERGER, H.C.L. (1912):

Eine Dreizahl englischer Erfahrungen in Bezug auf
gefrorenes und gekühltes überseeisches Fleisch.

B. Schimmelwucherung.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 4, 59;

BIDAULT, C. (1921):

Surales moisissures des viandes congelées.

C.R. Soc. Biol., Tome II, 73, 1017

zit. nach HADLOK, R. (1970);

BIDAULT, C., (1923):

Die Pilze auf gefrorenem Fleisch (Ref. von Krause).

Z. ges. Kälteindustrie 30, 9;

BOER, E. de, H. LABOTS, M. STOLK-HORSTHUIS und J.N. VISSER (1979)

Sensitivity to natamycin of fungi in factories
producing dry sausage.

Fleischwirtschaft 59, 1868;

BROOKS, F.T. und M.N. KIDD (1921):

Black spots of chilled and frozen meat.

Food Investigation Board, Dept. Science and

Industry Res., London, Special Report 6

zit. nach BROOKS und HANSFORD (1923);

BROOKS, F.T. und C.G. HANSFORD (1923):

Mold growth upon cold-store meat.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 8, 113;

BRYAN, F.L. (1980):

Poultry and poultry meat products.

In: Microbial ecology of foods, vol. II,

International Commission on Microbiological
Specifications for Foods (ICMSF)

Academic Press, New York (u.a.);

CARBONE, D. (1914):

Descrizione di alcuni eumiceti provenienti da carni
insaccate sane.

Atti Ist. Botan. Univ. Pavia, Serie II, 14, 259

zit. nach HADLOK, R. (1970);

CHESTERS, C.G.C. (1948):

A contribution to the study of fungi in the soil.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 30, 100;

CHRISTENSEN, C.M. und H.H. KAUFMANN (1965):

Deterioration of stored grains by fungi.

Ann. Rev. Phytopath. 3, 69;

DAVIES, R.R. (1957):

A study of air-borne Cladosporium.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 40, 409;

DINTSCHEV, D. (1976):

Ein Schnellverfahren zur Anwendung von Sorbinsäure
zur Verhinderung von Schimmelpilzwachstum auf
Dauerwürsten.

22. Europ. Fleischforscher-Kongreß, Malmö, G:3;

DOMSCH, K.H., W. GAMS und T.H. ANDERSON (1980):

Cladosporium Link ex Fries.

In: Compendium of soil fungi, vol. 1, p. 201

Academic Press, London (u.a.);

DUDMAN, W.F. (1963):

Sorbic hydroxamic acid, an antifungal agent effective
over a wide pH range.

Appl. Microbiol. 11, 362;

DYE, M.H. und T.R. VERNON (1952):

Air-borne mould spores. A New Zealand survey.
New Zealand J. Sci. Techn. 34, 118;
zit. nach PADY et al. (1969);

ELLIS, M.B. (1971):

Cladosporium Link ex Fries.
In: Dematiaceous Hyphomycetes, p. 308
Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey, England;

ELLIS, M.B. (1976):

Cladosporium Link ex Fries
In: More dematiaceous Hyphomycetes, p. 325
Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey, England;

EMPEY, W.A. und W.J. SCOTT (1939):

Investigation on chilled beef.
Part I. Microbial contamination aquired in the
meatworks.
Counc. Sci. Ind. Res. Common. Australia Bull. 126, 1;

ERSCHIG, F. (1984):

Zur Reduzierung des Keimgehaltes auf Fleisch-
oberflächen mittels Genußsäuren.
Vet.med. Diss. München;

FILIP, Z. (1979):

Polyurethane as the sole nutrient source for
A. niger and Cladosporium herbarum.
Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 7, 277;

FRANK, H.K. (1983):

Mikrobielle Besiedlung von Kunststoffen.
Material u. Organismen 18, 269;

FRANK, H.K. (1985):

Persönliche Mitteilung;

FRAZIER, W.C. und D.C. WESTHOFF (1979):

Food microbiology, 3rd ed.
Tata McGraw-Hill Publ., New Delhi;

FREY, D., R.J. OLDFIELD und R.C. BRIDGER (1979):

A colour atlas of pathogenic fungi.
Wolfe Med. Publ., London;

GEDEK, B. (1967):

Pilzkrankheiten während der Aufzucht.
Tierärztl. Umschau 22, 149;

GEDEK, B. (1980):

Kompendium der medizinischen Mykologie.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg;

GILL, C.O. und P.D. LOWRY (1982):

Growth at sub-zero temperatures of black spot
fungi from meat.
J. appl. Bact. 52, 245;

GILL, C.O., P.D. LOWRY und M.E. DIMENNA (1981):

A note on the identities of organisms causing
black spot spoilage of meat.
J. appl. Bact. 51, 183;

GISSKE, H.W. (1937):

Über die für die Verderbnis von in Kühlhäusern eingelagerten Eiern wichtigen Schimmelpilze unter besonderer Berücksichtigung des Schimmelpilzgehaltes der Kühlhausluft.

Vet.med.Diss., Hannover

zit. nach HADLOK (1970);

GOLDBACH, W. (1968):

Forschungsergebnisse auf dem Gebiet von Nahrung und Ernährung, ausgewählt aus dem neueren Schrifttum.

3. Mitt.: Die Schimmelpilze in ihrer lebensmittel-chemischen und -hygienischen Bedeutung.

Die Nahrung 12, 283;

GOODING, C.M. (1945):

Process of inhibiting growth of molds.

U.S. Patent 2,379,294, June 26.

zit. n. DUDMAN (1963);

GRACEY, J.F. (1978):

Thornton's meat hygiene.

Baillière Tindall, London, 7th ed., p. 195;

GREGORY, P.H. (1954):

The construction and use of portable volumetric spore trap.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 37, 390;

GRIFFIN, D.M. (1960):

Fungal colonization of sterile hair in contact with soil.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 43, 583;

GROLL, D. und E. LÜCK (1970):

Wirkung von Sorbinsäure und Sorboylpalmitat auf
die Aflatoxinbildung im Brot.

Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 144, 297;

HADLOK, R. (1967):

Schimmelbefall bei Mortadella-Portionswürstchen.

Fleischwirtschaft 47, 558;

HADLOK, R. (1969):

Schimmelpilze bei Fleischerzeugnissen.

Fleischwirtschaft 49, 455;

HADLOK, R. (1970):

Untersuchungen über Vorkommen, Herkunft und
Beurteilung von Schimmelpilzen, insbesondere der
Gattung Aspergillus Micheli ex Fries bei Fleisch-
produkten.

Habilitationsschr., Universität Gießen;

HADLOK, R. (1971):

Beurteilung verschimmelter Fleischprodukte.

Fleischwirtschaft 51, 278;

HADLOK, E. (1972):

Vorkommen und Bedeutung von Schimmelpilzen und
Hefen in Lebensmitteln.

Arch. Lebensmittelhyg. 23, 285;

HADLOK, R. (1977):

Schimmelpilze und Hefen bei Fleischwaren.

Schriftenreihe Schweiz. Ges. Lebensmittelhyg.,

H. 6, 55;

HADLOK, R., R.A. SAMSON, A.C. STOLK und M.A.A. SCHIPPER (1976):
Schimmelpilze und Fleisch: Kontaminationsflora.
Fleischwirtschaft 56, 372;

HALLMANN, L. und F. BURKHARDT (1974):
Klinische Mikrobiologie. 4. Aufl.
G. Thieme Verlag, Stuttgart;

HAMILTON, E.C. (1959):
Studies on the air spora.
Acta allerg. 13, 143;

HARRIS, L.H. und M.D. CHAIRMAN (1950):
Report of the sub committee on mold survea of the
Research Council, American Academy of Allergy for
the season of 1949.
J. Allergy 21, 455;

HARVEY, R. (1967):
Air-spora studies at Cardiff. I. Cladosporium.
Trans. Brit. Mycol. Soc. 50, 479;

HECHELMANN, H. und L. LEISTNER (1969):
Hemmung von unerwünschtem Schimmelpilzwachstum
auf Rohwürsten durch Delvocid (Primaricin).
Fleischwirtschaft 49, 1639;

HIRST, J.M. (1953):
Changes in atmospheric spore content: Diurnal
periodicity and the effect of weather.
Trans. Brit. Mycol. Soc. 36, 375;

HOLLEY, R.A. (1981):

Prevention of surface mold growth on Italian
sausage by natamycin and potassium sorbate.
Appl. Environm. Microbiol. 41, 422;

HOLMES, N.-E. (1953):

Physikalische und technische Probleme beim
Transport von gekühltem Rindfleisch aus Australien.
Fleischwirtschaft 5, 288;

HUDSON, H.J. (1969):

Aspergilli in the air-spora at Cambridge.
Trans. Brit. Mycol. Soc. 52, 153;

HUGHES, S.J. (1958):

Revisiones hyphomycetum aliquot cum appendice de
nominibus rejiciendis.
Can. J. Bot. 36, 727;

HYDE, H.A. und K.F. ADAMS (1960):

Airborne allergens at Cardiff 1942 - 1949.
Acta allerg. Suppl. 7, 159;

HYDE, H.A. und D.A. WILLIAMS (1949):

A census of mould spores in the atmosphere.
Nature 164, 668;

HYDE, H.A. und S.A. WILLIAMS (1953):

The incidence of Cladosporium herbarum in the
outdoor air at Cardiff 1949 - 1950
Trans. Brit. Mycol. Soc. 36, 260;

HYDE, H.A., M. RICHARDS und D.A. WILLIAMS (1956):

Allergy to mould spores in Britain.

Brit. Med. J. 1, 886;

INGRAM, M. und B.M. MACKEY (1976):

Inactivation by could.

In: Skinner, F.A. und W.B. Hugo (eds.): Inhibition
and inactivation of vegetative microbes, p. 111

Academic Press, London (u.a.);

JOFFE, A.Z. (1962):

Biological properties of some toxic fungi isolated
from overwintered cereals.

Mycopath. Mycol. Appl. 16, 201;

JOFFE, A.Z. (1965):

Toxin-production by cereal fungi causing alimentary
aleukia in man.

In: Wogan, G.N. (ed.): Mycotoxins in foodstuffs, p. 75
M.I.T. Press, Cambridge, Mass. (USA);

KLARE, H.J. (1970):

Die Bedeutung des Darminhaltes von Schlachttieren
als Ursache für die Kontamination von Fleisch und
Fleischerzeugnissen mit Schimmelpilzen.

Fleischwirtschaft 50, 150;

KLARE, H.J. (1971):

Über das Vorkommen von Schimmelpilzen in den Faeces
von Schwein und Rind in fleischhygienischer Sicht.

Vet.med.Diss., Gießen;

KLEIN, E. (19..):

Report of black spots on chilled beef.

Quoted in Leighton and Douglas "The meat industry and meat inspection", Seite 1544.

zit. nach BROOKS u. HANSFORD (1923);

KLIS, J.B., L.D. WITTER und Z.J. ORDAL (1959):

The effect of several antifungal antibiotics on the growth of common food spoilage fungi.

Food Technol. 13, 124;

KRAMER, C.L., S.M. PADY und C.T. ROGERSON (1959):

Kansas aeromycology. III: Cladosporium.

Trans. Kans. Acad. Sci. 62, 200;

KWON-CHUNG, K.J., I.S. SCHWARTZ und B.J. RYBAK (1975):

A pulmonary fungus ball produced by Cladosporium cladosporioides.

Am. J. Clin. Pathol. 64, 564;

LACEY, H.A. (1962):

The summer air-spora at two contrasting adjacent rural sites.

J. Gen. Microbiol. 29, 485;

LEISTNER, L. (1956):

Hüllendefekte bei Rohwürsten in Kunstdärmen auf Zellulosebasis.

Fleischwirtschaft 8, 182;

LEISTNER, L. (1984):

Toxigenic penicillia occuring in feeds and foods: A review.

Food Technol. Australia 36, 404;

LEISTNER, L. und J.C. AYRES (1967):

Schimmelpilze und Fleischwaren.

Fleischwirtschaft 47, 1320;

LEISTNER, L. und C. ECKARDT (1981):

Schimmelpilze und Mykotoxine in Fleisch und

Fleisch-Erzeugnissen.

In: REISS, J. (Hrsg.): Mykotoxine in Lebensmitteln, 297

Fischer, Stuttgart;

LEISTNER, L., J.C. AYRES und D.A. LILLARD (1965):

Occurrence and significance of fungi in cured meats.

4th Symp. World Ass. Vet. Food Hygienists,

Lincoln, Nebr., 25;

LEISTNER, L., I.Y. MAING und E.BERGSMANN (1975):

Verhinderung von unerwünschtem Schimmelpilzwachstum

auf Rohwurst durch Kaliumsorbat.

Fleischwirtschaft 55, 559;

LIEWEN, M.B. und E.H. MARTH (1984):

Inhibition of Penicillia and Aspergilli by

potassium sorbate.

J. Food Prot. 47, 554;

LOTFI, A., H.A. ABDEL-RAHMAN, Y. HEFNAWY und H. YOUSSEF (1983):

Untersuchungen des mykologischen Status von Würsten

in Oberägypten.

Fleischwirtschaft 63, 633;

LOWRY, P.D. (1980):

Black spot.

21st Meat Res. Conf., Hamilton, No. 748, 47

Meat Ind. Res. Inst. New Zealand;

LOWRY, P.D. (1982):

Fungal spoilage, black spot and other moulds
on meat.

Meat Ind. Res. Inst. New Zealand, No. 2, 1;

LOWRY, P.D. und T. ASHTON (1982):

Fungal spoilage, black spots and other moulds
on meat, No. 2.

Meat Ind. Res. Inst. New Zealand (MIRINZ);

LOWRY, P.D. und C.O. GILL (1984a):

Temperature and water activity minima for growth
of spoilage moulds from meat.

J. Appl. Bact. 56, 193;

LOWRY, P.D. und C.O. GILL (1984b):

Mould growth on meat at freezing temperatures.

Int. J. Refrig. 7, 133;

LÜCK, E. (1969):

Sorbinsäure. Bd. I: Chemie.

Behr's Verlag, Hamburg;

LÜCK, E. (1972):

Sorbinsäure, Bd. II: Biochemie - Mikrobiologie.

Behr's Verlag, Hamburg;

LÜCK, E. (1981):

Schutzmaßnahmen gegen den Lebensmittelverderb durch
Schimmelpilze.

In: REISS, J. (Hrsg.): Mykotoxine in Lebensmitteln, 437
Fischer, Stuttgart;

LÜCK, E. (1984):

Sorbinsäure und Sorbate. Konservierungsstoffe für
Fleisch und Fleischwaren - Literaturübersicht.
Fleischwirtschaft 64, 727;

LUKAS, E.-M. (1964):

Zur Kenntnis der antimikrobiellen Wirkung der
Sorbinsäure, II. Mitt.: Die Wirkung der Sorbinsäure
auf *Aspergillus niger* van Tieghem und andere
Schimmelpilze.

Zbl. Bakteriол., Parasitenkunde, Infektionskrankh.,
Hyg., II. Abt. 117, 485;

MASSEE, G. (1912):

On the discoloured spots, sometimes present on
chilled beef, with reference to "black spot".

J. Hyg. Cambridge 12, 489;

MATEEV, L. (1970):

Inf. Bulletin 314, 11

zit. nach DINTSCHEV (1976);

MAYER, C.F. (1953):

Endemic panmyelotoxicosis in the Russian grain belt.
Part two: The botany, phytopathology and toxicology
of Russian cereal food.

Military Surg. 113, 295;

MAYR, A. (1984):

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchen-
lehre. 5. Aufl.

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart;

McGOWAN, J.C., P.W. BRIAN und H.G. HEMMING (1948):

Ann. appl. Biol., 35, 25;

zit. n. LÜCK (1972);

MICHENER, H.D. und R.P. ELLIOTT (1964):

Minimum growth temperatures for food-poisoning,
fecal-indicator, and psychrophilic microorganisms.

Adv. Food Res. 13, 349;

MINAMI, P.S. (1983):

Occurrence of moulds in refrigerators and freezers.

Ciencia e Tecnologia de Alimentos 3 (2), 228

Ref. in Food Sci. Technol. Abstr. 16 (1984), 12B176;

MINTZLAFF, H.-J. (1971):

Prüfung von Anstrichfarben, die gegen Schimmelpilze
wirksam sind und in Produktions- und Lagerräumen
von fleischverarbeitenden Betrieben angewendet
werden können.

Fleischwirtschaft 51, 191;

MOERMAN, P.C. (1966):

Vlees, 8, 73

zit. n. LEISTNER et al. (1975);

MOERMAN, P.C. (1967):

Vlees, 8, 73

zit. n. LEISTNER et al. (1975);

MOERMAN, P.C. (1972):

Mould control in meat products using pimaricin.

Voedingsmiddelen Technol. 3, 261;

MONVOISIN, M. (1918):

Les moisissures des viandes congelées.

Rec. Med.Vet. 94, 306

zit. nach BROOKS und HANSFORD (1923);

MONVOISIN, A. (1923):

La conservation par le froid des dendrees perissables.

Dounod. S. 263

zit. nach WRIGHT (1923);

MORROW, M.B., E.P. LOWE und H.E. PRINCE (1942):

Mold fungi in the etiology of respiratory allergic diseases.

1. Survey of airborne molds.

J. Allergy 13, 942;

MÜGGENBURG, H. (1974):

Schwarzfleckigkeit bei Rohwurst.

Fleischwirtschaft 54, 855;

MÜLLER, E. (1970):

Schimmel und Schimmelpilze.

Alimenta Sondernummer, 15;

MÜLLER, E. (1974):

Was sind Schimmelpilze und Hefen?

Alimenta 13, 50;

MÜLLER, M. (1913):

Beitrag zur Schwarzfleckigkeit des Gefrierfleisches.

Z. Fleisch- u. Milchhyg. 24, 97;

MYERS, W.A. (1956):

Air-borne molds in Honolulu.

J. Allergy 27, 531;

NEWTON, K.G. (1978):

Mould growth on polymer sealant materials.

Publ. Meat Ind. Res. Inst. New Zealand 13, 654

zit. nach FRANK (1983);

NOSKOWA, G.L. (1975):

Mikrobiologie des Fleisches bei Kühllagerung.

1. Aufl.

Fachbuchverlag, Leipzig;

OGUNLANA, E.O. (1975):

Fungal air spora at Ibadan, Nigeria.

Appl. Microbiol. 29, 458;

OSTHOLD, W., J. DRESEL und L. LEISTNER (1981):

Haltbarkeitsverlängerung von Rinder-Schlachttierkörpern durch Spraybehandlung.

Jahresbericht BAFF Kulmbach, C 22;

OSTHOLD, W., H.K. SHIN, J. DRESEL und L. LEISTNER (1982):

Energiesparen bei der Lagerung von Fleisch und Fleischerzeugnissen.

Mitt.bl. BAFF Kulmbach Nr. 76, 4991;

OSTHOLD, W. (1985):

Spraybehandlung von Schlachttierkörpern zur Haltbarkeitsverlängerung bei fehlender schwacher Kühlung - Untersuchungen für Entwicklungsländer.

Vet.med.Diss., Berlin;

OZARI, R. und L. KOTTER (1986):

Potentiell infizierte und kontaktinfektionsgefährdete Lebensmittel tierischen Ursprungs.
Vortrag gelegentlich der 9. Düsseldorfer Hygienetage
am 12./13.3.1986, Düsseldorf;

PADY, S.M. (1951):

Fungi isolated from arctic air in 1947.
Can. J. Bot. 29, 46;

PADY, S.M. (1957):

Quantitative studies of fungus spores in the air.
Mycologia 49, 339;

PADY, S.M. und L. KAPICA (1955):

Fungi in the air over the atlantic ocean.
Mycologia 47, 34;

PADY, S.M. und L. KAPICA (1956):

Fungi in air masses over Montreal during 1950
and 1951.
Can. J. Bot. 34, 1;

PADY, S.M., C.L. KRAMER und R. CLARY (1969):

Periodicity in spore release in Cladosporium.
Mycologia 61, 87;

PANASSENKO, V.T. und E.S. TATARENKO (1940):

Psychrotolerante Pilzflora bei Nahrungsmitteln.
Mikrobiologija 9, 579
zit. nach HADLOK (1970);

PARK, D. (1957):

Behaviour of soil fungi in the presence of fungal antagonists.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 40, 358;

PATHAK, V.K. und S.M. PADY (1965):

Numbers and viability of certain airborne fungus spores.

Mycologia 57, 301;

PAWSEY, R.G. und I.A.F. HEATH (1964):

An investigation of the spore population of the air at Nottingham. I. The result of Petri Dish trapping over one year.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 47, 351;

POMERANZ, Y. (1957):

Effectiveness of sorbic acid in preservation of damp wheat.

Food Res. 22, 553;

RACOVITA, A., A. RACOVITA und T. CONSTANTINESCU (1969):

Die Bedeutung von Schimmelpilzüberzügen auf Dauerwürsten.

Fleischwirtschaft 49, 461;

REFAI, M. und A. LOOT (1969):

Studies of mould contaminations of meat in slaughter houses, butcher's shops and cold stores.

Mykosen 12, 621;

REHM, H.-J. (1959):

Erfahrungen mit der Filterpapiermethode zur
Schnellprüfung von Konservierungsmitteln gegen
Schimmelpilze.
Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forschung, 110, 375;

REHM, H.-J. und E. LÜCK (1967):

Zur Kenntnis der antimikrobiellen Wirkung der
Sorbinsäure. VII. Die antimikrobielle Wirkung von
Verbindungen zwischen Sorbinsäure und Aminosäuren.
Zbl. Bakteriол., Parasitenkunde, Infektionskrankh.,
Hyg., II. Abt. 121, 599;

REHM, H.-J., H. WITTMANN und U. STAHL (1961):

Untersuchungen zur Wirkung von Konservierungs-
mittelkombinationen. VI. Mitt.: Das antimikrobielle
Spectrum bei Kombinationen von Konservierungsmitteln.
Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 115, 244;

REISS, J. (1977):

Schimmelpilze und Mykotoxinbildung auf Brot und
Backwaren.
Getreide, Mehl, Brot 31, 265;

REISS, J. (1981):

Mykotoxine in Lebensmitteln.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York;

RICH, S. und P.E. WAGGONER (1962):

Atmospheric concentration of Cladosporium spores.
Science 137, 962;

RICHARDS, M. (1953):

The investigation of the identity and incidence of airborne fungal spores as a basis for the study of fungi as allergens.

Ph.D. Thesis, University of Wales

RICHARDS, M. (1956):

A census of mould spores in the air over Britain in 1952.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 39, 431;

RIETH, H. (1974):

Humanpathogene Hefen und Schimmelpilze in Lebens- und Futtermitteln.

Alimenta 13, 65;

ROLLE, M. und E. KOLB (1954):

Zur Frage des Vorkommens von Schimmelpilzen (Mucoreaceae, Aspergillaceae) im Magen-Darmkanal der Haustiere.

Z. Hyg. 139, 415;

SAMSON, R.A., E.S. HOEKSTIA und C.A.N. VAN OORSCHOT (1981):

Introduction to food fungi.

Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn

The Netherlands;

SAVOV, D. und Z. KOUNEV (1974):

Study on the moulds in meat and nonperishable meat products at freeze storage.

Vet. Sci. Sofia 11, 91;

SCHELHORN, M. von (1954):

Untersuchungen über Konservierungsmittel X:
Orientierende Versuche über Sorbinsäure als
Konservierungsmittel.

Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 50, 267;

SCHMIDT-LORENZ, W. (1977):

Allgemeine Bedeutung von Pilzen und Hefen in
Lebensmitteln.

Schriftenreihe Schweiz. Ges. Lebensmittelhyg.,
H. 6, S. 9;

SCHMIDT-LORENZ, W. und J. GUTSCHMIDT (1969):

Mikrobielle und sensorische Veränderungen gefrorener
Brathähnchen und Poularden bei Lagerung im Temperatur-
bereich von -2,5 ° bis -10 °C.

Fleischwirtschaft 49, 1033;

SCHÖNBERG, F. (1954):

Anfrage betr. Verschimmelung (Stockfleckigkeit)
von Gefriergeflügel.

Lebensmitteltierarzt 5, 60;

SCHREIBER, H. (1980):

Zum Vorkommen Toxinbildner, Aspergillen und
Penicillien im Rinderkot.

Vet. med. Diss., München;

SEAL, K.J. und R.A. PATHIRANA (1982):

The microbiological susceptibility of polyurethanes;
a review.

Int. Biodetn. Bull. 18, 81

zit. nach FRANK (1983);

SEMENIUK, G. und W.G. BALL (1937):

Some molds associated with meat in cold storage lockers in Iowa.

Iowa Acad. Sci. 44, 37;

SILVA, P. (1913):

Beitrag zum Studium der schwarzen Flecken auf dem gefrorenen Fleisch.

Z. Fleisch- u. Milchhyg. 23, 267;

SINELL, H.J. (1985):

Einführung in die Lebensmittelhygiene. 2. Aufl.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg;

SPICHER, G. (1981):

Schimmelpilze und Mykotoxine in Getreide.

In: REISS, J.: Mykotoxine in Lebensmitteln.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York;

SREERAMULU, T. und V. SESHAVATARUM (1962):

Spore content of air over paddy fields.

I. Changes in a field near Pentapodu from 21 Sept. to 31 Dec., 1957.

Indian Phytopath. 15, 61

zit. nach PADY et al. (1969);

STENTON, H. (1953):

The soil fungi of wicken fen.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 36, 304;

SUTIC, M., J.C. AYRES und P.E. KOEHLER (1972):

Identification and aflatoxin production of molds
isolated from country cured hams.

Appl. Microbiol. 23, 656;

TALAYRACT, M.J. (1901):

Conserves de viandes par les procédés frigorifiques.

Ann. d'hygiène publique, sér 3, XLV, 166

zit. nach BROOKS und HANSFORD (1923);

TORREY, G.S. und E.H. MARTH (1977):

Temperatures in home refrigerators and mold growth
at refrigeration temperatures.

J. Food Prot. 40, 393;

VRIES, G.A. de, (1952):

Contribution to the knowledge of the genus

Cladosporium Link ex Fries.

Diss. Univ. Utrecht;

WALLHÄUSSER, K.H. (1984):

Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konser-
vierung, Keimidentifizierung, Betriebshygiene.

Thieme, Stuttgart (u.a.);

WALLHÄUSSER, K.H. und E. LÜCK (1970):

Der Einfluß der Sorbinsäure auf mycotoxinbildende
Pilze in Lebensmitteln.

Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 66, 88;

WALLHÄUSSER, K.H. und E. LÜCK (1978):

Zur Wirkung von Sorbinsäure gegen Mycotoxinbildner.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 167, 156;

WALZ, E. (1957):

Schimmelpilzbefall als Ursache fleckiger Rohwurst-
hüllen.

Arch. Lebensmittelhyg. 8, 53;

WARCUP, J.H. (1951):

The ecology of soil fungi.

Trans. Brit. Mycol. Soc. 34, 376;

WINKELMANN, F. (1960):

Über die Wirkung von Sorbinsäure auf Kulturmilch-
säurebakterien.

Milchwissenschaft 15, 565;

WRIGHT, A.M. (1923):

Moulds and frozen meats.

New Zealand J. Sci. Technol. 6, 208;

WRIGHT, A.M. (1925):

Black spots on frozen meats.

New Zealand J. Sci. Technol. 7, 332;

YORK, G.K. (1960):

Studies on the inhibition of microbes by sorbic
acid.

Diss. Univ. of California, Davis.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. L. KOTTER danke ich für Überlassung des Themas, Bereitstellung des Arbeitsplatzes sowie vielseitige Förderung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. R. OZARI für die vielen Anregungen, die jederzeit gewährte Unterstützung sowie die kritische Durchsicht der Arbeit.

Herrn Akad. Direktor Dr. G. KRAUSSE danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit als auch bei der Bewältigung von Startschwierigkeiten in München.

Herrn Dr. J. BAUER danke ich für die freundliche Beratung und wertvollen Hinweise bei der Durchführung mikroskopischer Untersuchungen, den Kollegen des Städt. Schlachthofes München für das freundliche Entgegenkommen bei den Probennahmen.

Den Herren Professor Dr. H. FRANK (Karlsruhe) und Professor Dr. R.M. HADLOK (Gießen) und Professor Dr. L. LEISTNER (Kulmbach) bin ich für wertvolle Literaturhinweise dankbar.

Herrn Dr. J. KLEIN danke ich für die Hilfe bei der englischen Übersetzung der Zusammenfassung.

Für allzeit gewährte freundliche Hilfe danke ich den Mitarbeitern des Instituts für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs, insbesondere Fräulein V. SCHRADER, Frau M. SCHMIDT und Fräulein J. OGRIZEK.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank Herrn Professor Dr. M.F. HOUSSEIN, dem früheren Kulturrat sowie Herrn Professor Dr. M.A. SALEM (Kulturabteilung und Studienmission der Arabischen Republik Ägypten in Bonn) für die Unterstützung in der Bundesrepublik Deutschland.

LEBENS LAUF

Name	Nada Khalifa Mohamed MANSOUR
geboren	am 21.12.1952 in El-Kallag/Ägypten als drittes von sechs Kindern
Eltern	Khalifa Mohamed Khalifa MANSOUR und Ehefrau Fatema Abd El-Rahiem SHEHATA
Familienstand	verheiratet seit 1983 mit der Betriebs- wirtschaftlerin Nahed Said Mahmoud ABD EL-MOULA
Kinder	Tochter Fatema, geb. am 20.3.1985 in München
1959 - 1965	Besuch der Volksschule in El-Kallag/ El-Kalioubia
1965 - 1968	Besuch der Preparatory School in El-Khanka/El-Kalioubia
1968 - 1971	Besuch der Secondry School in El-Khanka/El-Kalioubia
1971	Abitur
1971 - 1976	Studium der Tiermedizin an der Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University
1976	Bachelor Degree (B.V.Sc.)
1977	Militärdienst
1979	Erlangung des Grades eines Masters (M.V.Sc.)
bis 1981	Wissenschaftlicher Assistent bei Prof. Dr. S. EL-MOSSALAMI am Department of Food Control, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University
Nov. 1981 - März 1983	Studium der deutschen Sprache am Goethe-Institut, Staufen/Breisgau, und "Deutschkurse für Ausländer" an der Universität München
seit SS 1983	Doktorand bei Prof. Dr.Dr.h.c. L. KOTTER am Institut für Hygiene und Techno- logie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

التجربة الرئيسية و لان في هذا الوقت اصبحت امكانية معاملة اللحوم و تطهيرها ببعض الاحماض و المركبات التي تشبط نمو الفطريات و البكتيريا من الابحاث الحديثة فقد تم بجانب دراسة نمو هذه الفطريات على اللحوم دراسة الاثر التشبيطي لحمض السوربيك (0.25%) و محلول السوربات (20 جرام من سوربات البوتاسيوم + 5 جرام من أسيتات الصوديوم + 5 جرام من ملح الطعام + 100 سم³ من الماء) على الافخاذ المحقونة بالفطريات الثلاثة الهامة في الاغذية و هم على التوالي ك. كلادوسپوريادس ك. هيرباروم ، ك. سيفتروسروم ، و ذلك عن طريق تغطيس هذه الافخاذ في المحاليل حمض السوربيك و السوربات بعد حقنها بافطريات المختلغة .

خامسا : و بعد ثمانية عشر أسوعا من التخزين عند درجات حرارة (-2 ± 1 درجة مئوية) قد تم شتوت وجود نمو كثير التباين من الخمائر على جميع الافخاذ بما فيها عينة التحكيم . و قد لوحظ أن البقع السوداء قد تكونت على العينة المحقونة بالكلاوسپورم كلاوسپوريادس ، في حين أنه لا يوجد أى نمو لهذه البقع على العينات الاخرى سواء المعاملة أو الغير معاملة بحمض السوربيك أو محلول السوربات فوق ذلك فقد تم عزل جميع فطريات الكلاوسپورم المعزولة من العينات المحقونة ما عدا المعاملة بحمض السوربيك و محلول السوربات و بهذا قد تم اثبات الاثر التشبيطي لحمض السوربيك و محلول السوربات على الفطريات .

هذا و أتوجه بالحمد و الشكر لله العلي القدير الذي وفقني لانجاز هذه الدراسة و أسأله أن يعلمنا ما ينفعنا ، و أن ينفعنا بما يعلمنا ، و أن يهدينا سبيل الرشاد ، و أن يوفقنا الى خدمة الوطن انه على كل شيء قدير و بالاجابة جدير .

و آخر دعوانا أن الحمد لله رب العالمين .

أولا : لقد أجرى البحث في مذبج ميونخ ، وقد تم عزل ٧٦٨ عترة من الفطريات من صالة الذبح الخاصة بالفئان وذلك أثناء ذبحها . وقد تمثلت العينات المأخوذة من صالة الذبح نفسها (الهواء والجدران والأرضيات) و من الحيوانات المذبوحة (الفروة و محتويات الأمعاء) و من سطح الذبائح (الأسطح الخارجية و جدران الذبيحة الداخلية) كما تم أخذ عينات أيضا من حجرات التبريد في المذبج و عربات النقل المعكيفة و الخاصة بنقل الذبائح الى أماكن التوزيع المختلفة . وقد تم تصنيف الفطريات المعزولة الى أجناس أما فطر الكلاوسبورم (التي ركزت عليه الدراسة) فقد صنف الى أصناف . وبعد ذلك فقد تم اختيار هذه الأصناف من الكلاوسبورم على لحوم الفئان المجمدة و المثلجة و تتيج ما اذا كانت تسبب "البقع السوداء" "Black Spots" على اللحوم من عدمه

ثانيا : ولما صنف الفطريات المعزولة (٧٦٨ فطرا) وجد أن الأجناس التالية هي السائدة :

الاسبريجيلوس	٢٦٦	عترة (٢٤,٦٦ %)
البنسيليوم	٩٣	عترة (١٢,٨١ %)
الكلاوسبورم	٩١	عترة (١١,٩٩ %)
الالترناريا	٦٧	عترة (٨,٦١ %)
الابسيديا	٥٢	عترة (٦,٢٢ %)
الاسكوبولاريوسيس	١٧	عترة (٢,٢٢ %)
الموكر	١٣	عترة (١,٧٧ %)
اليزوبوس	١٢	عترة (١,٦٦ %)

و من الواحد و التسعين من فطر الكلاوسبورم صنف الأصناف التالية :

ك. كلاوسوبوي ايدس	٤٥	(٤٩,٥٥ %)
ك. هيرباروم	٣٥	(٣٨,٥٥ %)
ك. سبيش	٦	(٦,٦٦ %)
ك. سفروسوم	٣	(٢,٢٢ %)
ك. ريزاني	١	(١,٦٦ %)
ك. تنيوايسيم	١	(١,٦٦ %)

و قد تم عزل معظم هذه الأصناف من الكلاوسبورم عن الجدران (٣٩=٤٢,٩٦ %) و من الهواء (٣٦=٣٩,٦٦ %) و الباقي قد تم عزله من عينات الفروة (٦=٦,٦٦ %) و الأرضيات (٤=٤,٤٩ %) و من محتويات الأمعاء (٢=٢,٢٢ %) و من حجرات التبريد (٢=٢,٢٢ %).

ثالثا : و كيفية تلوث ذبائح الفئان الطازجة فقد نتج عن البحث أنها لا توافق ما ذكر في معظم الأبحاث و هو أن الهواء مصدر أساسي العدوى بالفطريات على الوجه العام . ولكنها تتناسب مع كون محتويات الأمعاء كمصدر لهذا التلوث بالفطريات . و ربما يؤدي الهواء بعد ذلك أثرا كبيرا في تلوث هذه اللحوم أثناء النقل و المعاملة و التصنيع و التخزين .

رابعا : و بعد التجارب الأولية على قطع اللحوم الصغيرة (١×٥×٥ سم) لمعرفة كيفية نمو فطر الكلاوسبورم على اللحوم لم تثبت ما ذكره (جيل و زملاؤه ١٩٨١، جيل و لوري ١٩٨٢) و أيضا لأنه لا توجد نقطة ارتكان عملية لمعرفة كيفية السير قدما في

تشكل الفطريات من الناحية الصحية على اللحوم ومنتجاتها أهمية كبيرة ، إذ يشار إليها على أنها سبب من أسباب تعفنها ، وعلى الجانب الآخر فإن أنواعا منها لها القدرة على افراز سموم فطرية خاصة بعض الانواع من الاسبريجيلوس والبنسيليوم والفيوزاريوم . و ما زال الباب مفتوحا لمزيد من الابحاث و الايضاحات لمعرفة ما اذا كانت هذه الفطريات السامة تفرز سموما على اللحوم و منتجاتها من عدمه .

و كما أن الفطريات تلعب دورا صغيرا اذا ما قورنت بالميكروبات خاصة في اللحوم الطازجة المثلجة لمدة قصيرة فانها على الجانب الآخر تسبب مشاكل كثيرة خاصة في اللحوم و منتجاتها المخزنة عند درجات حرارة منخفضة لمدة ليست بالقصيرة .

و من الفطريات الغير نادرة و التي تسبب تعفنا على أو في اللحوم و منتجاتها كما ذكر هو فطر الكلادوسپورم لنك اكس فريز الذي يرجع تاريخ اكتشافه الى عام ١٨١٥ و ١٨٢١ . Cladosporium Link ex Fries. و قد وصف من هذا الفطر ما يقارب الخمسمائة عترة أما المسمى منه و الموصوف وصفا دقيقا و كاملا ما يزيد عن الاربعين نسوع "هيوجس ١٩٥٨ ، الز ١٩٧١ ، ١٩٧٦ ، دومش و زملائه ١٩٨١" و نظرا لوجود تشابه كبير بين نمو هذه الانواع على الاوساط الصناعية أيضا تحت المجهر فإن التفريق يعتبر في غاية الصعوبة و نأخذ مثلا لذلك فقد درج نوع واحد و هو الكلادوسپورم هيرباروم تحت أسماء تقارب الاربعين خلال قرن من الزمان "هيوجس ١٩٥٨" . و تسبب بعض أنواع من الكلادوسپورم بعض الامراض النباتية حيث أنها تعتبر من "فطريات الحقل" و أمراضا جلدية تصيب الانسان و الحيوان على السواء .

و من الناحية الصحية الغذائية تلعب أنواع الكلادوسپورم هيرباروم لنك اكسس جرای و الكلادوسپورم كلادوسپويويدس دی فريز و الكلادوسپورم سفيريوسيرموم بنسج دورا هاما إذ أنها كمعظم الانواع الاخرى لها القدرة على أن تنمو تحت درجات الحرارة المنخفضة مكونة على اللحوم - خاصة النوعين الاولين - ما يسمى بالبقع السوداء "Black Spots" "Schwarzfleckigkeit" فوق ذلك تستطيع خيوط هذا الفطر الداكنة اللون أن تخترق الطبقة السطحية من اللحوم بعض المليترات و بذلك يصعب ازالتهال إذ يلزم أن تنقش هذه البقع بالسكين .

و المهمة المكلف بها الباحث هي استكشاف هذا الفطر - الكلادوسپورم لنك اكس فريز في المذبح و دراسة تواجده على لحوم الضأن المبردة و المجمدة و تقييم هذه الدراسة . و الله ولي التوفيق

إهداء

إلى إتي الغالية فاهيمة الزهراء
إلى زوجتي أم الزهراء
إلى والدي ووالدي
إلى قريتي الصغيرة القليلة
إلى ولحي الكبير منهن

نذخليف منصور

ميونخ في يوم الجمعة

الموافق ١٩ ذي الحجة سنة ١٤٠٦

٢٥ يوليو سنة ١٩٨٦

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

” وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِلْمُوقِنِينَ. وَفِي أَنْفُسِكُمْ أَفَلَا
تَبْصُرُونَ. وَفِي السَّمَاءِ رِزْقُكُمْ وَمَا تُوعَدُونَ.
فَوَرَبُّ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ إِنَّهُ لَحَقٌّ مِثْلَ مَا
أَنْتُمْ تُخِطُّونَ * ”

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

معهد صحة الاغذية ذات الاصل الحيواني
كلية الطب البيطري - جامعة ميونيخ
الاستاذ الدكتور
لودفيج كوتر
رئيس المعهد - والمشرّف على الرسالة

تواجد فطريات الكلاوسبورم لنك اكس فريز على لحوم الضأن

رسالة مقدمة من
السيد ندا خليفة محل منصور
المدرس المساعد بكلية الطب البيطري
جامعة القاهرة
للحصول على
درجة الدكتوراة
في

العلوم الطبّية البيطرية
الرقابة الصحية على اللحوم ومنتجاتها

من
جامعة لودفيج ماكسميليان
ميونيخ - ألمانيا الفدرالية

ميونيخ

١٩٨٦

تواجد فطريات
الكلا وسبورم لنك إكس فريز على الحوم الضأن

نذ خليفة محمد منصور
القاوية - جمهورية مصر العربية

١٩٨٦

